

THESIS

MUNICH

1966

DIE QUANTITATIVE BESTIMMUNG
DER GESAMTGONADOTROPINAKTIVITÄT IM
HARN BEI GESUNDEN MÄDCHEN IN DER PUBERTÄT

Frank Paczynski

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

Aus der I. Frauenklinik und Hebammenschule
der Universität München
Direktor: Prof. Dr. W. Bickenbach

DIE QUANTITATIVE BESTIMMUNG DER
GESAMTGNADOTROPINAKTIVITÄT IM
HARN BEI GESUNDEN MÄDCHEN IN DER PUBERTÄT

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig - Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von
Frank Paczynski
Bremen

München 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. R.Kaiser

Mitberichterstatter: Prof. Dr. W.Bickenbach

Dekan: Prof. Dr. R.Zenker

Tag der mündlichen Prüfung: 3. MAI 1966

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. <u>Einleitung</u>	3
II. <u>Allgemeiner Teil</u>	3
A. Die gonadotropen Hormone des Hypophysen- vorderlappens (HVL)	3
B. Gonadotropine in der Pubertät.....	6
III. <u>Methodischer Teil</u>	8
A. Überblick über verschiedene Methoden zur quantitativen Gonadotropinbestimmung im Harn	8
B. Angewandtes Verfahren.....	9
1. Extraktion	9
2. Reinigung der Extrakte zur Verringe- rung der Toxizität	11
3. Biologische Aktivitätsbestimmung	11
4. Statistische Auswertung der experimen- tellen Ergebnisse	12
a) Die Vier-Punkte-Methode	12
b) Gültigkeitskriterien, Präzisionsma- ße und Vertrauensgrenzen	14
IV. <u>Spezieller Teil - Eigene Untersuchungen</u>	16
A. Die statistische Berechnung zur Bestim- mung der biologischen Aktivität	16
B. Herstellung des eigenen Laborstandards ..	21
C. Die Gonadotropinausscheidung im Harn bei Mädchen in der Pubertät	21
1. Roh- und Reinextraktmengen	22
2. Die Gonadotropinausscheidung in HMG- Einheiten	23
3. Statistische Sicherung der Ergebnisse	25

	<u>Seite</u>
V. <u>Diskussion der Methode und der Ergebnisse</u>	27
VI. <u>Zusammenfassung</u>	32
VII. <u>Tabellen und Abbildungen</u>	33
VIII. <u>Literaturverzeichnis</u>	53

I. EINLEITUNG

Gonadotropine sind Hormone des Hypophysenvorderlappens, die auf die Keimdrüsen wirken und im Harn ausgeschieden werden. Da es bisher noch nicht gelungen ist, die Gonadotropine chemisch zu bestimmen, stehen zur Zeit nur biologische Aktivitätsbestimmungen zur Verfügung. Dazu wurden verschiedene Methoden entwickelt, die unterschiedliche und schwer vergleichbare Ergebnisse ergaben, so daß über Qualität und Quantität der Gonadotropine noch manche widersprechende und hypothetische Angaben gemacht werden.

Für die drei Gonadotropine FSH, ICSH(=LH) und LTH gibt es noch keine exakten Trennungsverfahren, sie werden deshalb häufig zusammen als sogenannter "Gesamtgonadotropinkomplex" bestimmt. In dieser Arbeit wird die Höhe der Harngonadotropinausscheidung bei gesunden Mädchen in der Pubertät bestimmt, um die Normalwerte für eventuelle klinische Routineuntersuchungen zu kennen. Mit der hier angewandten Methode wurde auch die internationale Gonadotropineinheit HMG ermittelt.

II. ALLGEMEINER TEIL

A. Die gonadotropen Hormone des Hypophysenvorderlappens

Die Bedeutung des Hypophysenvorderlappens für die Ovarialfunktion wurde erstmals durch Versuche von EVANS und LONG (37), SMITH (83) sowie ASCHHEIM und ZONDEK (8) erkannt. Anschließend konnten andere Autoren aus Hypophysenvorderlappen von Schafen und Schweinen durch weitgehend chemische Methoden drei gonadotrop wirksame Substanzen isolieren (EVANS und SIMPSON, 38; DESCLIN, 31). Je nach ihrer im Tierversuch festgestellten Wirkung unterscheidet man:

1. das Follicle-Stimulating-Hormone, FSH
2. das Interstitial-Cell-Stimulating-Hormone bzw. Luteinising-Hormone, ICSH oder LH und
3. das Luteotrope Hormone, LTH.

Das follikelstimulierende Hormon (FSH) fördert das Follikelwachstum, übt aber wahrscheinlich keinen direkten Einfluß auf die Hormonproduktion aus. Auch reicht die FSH-Wirkung zur vollen Entwicklung des Follikels und zum Eisprung nicht aus. Die Ovulation ist nur in Zusammenarbeit von FSH und ICSH möglich. Außerdem ermöglicht das interstitiellstimulierende Hormon (ICSH) die Umwandlung des geplatzten Follikels in das Corpus luteum sowie die Östrogen- und Progesteronproduktion desselben. Das luteotrope Hormon wirkt wahrscheinlich auf die inkretorische Funktion des Corpus luteum ein und hält die sekretorische Funktion der Brüste bei stillenden Müttern aufrecht (APOSTOLAKIS, 6).

In Untersuchungen an Rattenhypophysen haben PURVES und GRIESBACH (75), und HERLANT (51) und HARTLEY (50) nachgewiesen, daß das FSH in den basophilen Zellen des HVL gebildet wird. Das ICSH hat seine Produktionsstätte in den eosinophilen Zellen. Die Biosynthese des LTH findet wahrscheinlich in den Gammazellen statt, die der chromophoben Zellgruppe angehören (ROMEIS, 78). ARON (7) glaubt, daß die verschiedenen Gonadotropine von einem einzigen Zelltyp in verschiedenen Funktionszuständen produziert werden.

Bisher ist es nicht gelungen weder ein urinäres noch hypophysäres Gonadotropin chemisch rein darzustellen. Alle Präparationen weisen überwiegend eine Art von biologischer Aktivität auf und sind mit anderen verunreinigt, z.B. FSH mit ICSH oder umgekehrt. Trotzdem sind schon mehrere physikalisch-chemische Daten der einzelnen Gonadotropine bekannt, wie z.B. Molekulargewicht, Sedimentationskoeffizient sowie Saccharid- und Aminosäureanteil. Mit Sicherheit gehören die Gonadotropine FSH und ICSH chemisch zur Gruppe der Glykoproteide (LEHNARTZ, 59; LEUTHARD, 60). Das LTH ist ein Protein ohne Zuckeranteil (BERSIN, 10).

Bisher gelang noch keine Trennung in ICSH- oder FSH-Fraktionen (BUTT, 27; BURRILLON, 17, 18, 19; JOHNSON, 54; RIGAS, 77; SCHNEIDER und FRAHM, 79). Es handelte sich bei den Präparationen immer um einheitlich in Elektrophorese oder Chromatographieverfahren erscheinende Substanzen mit FSH- und ICSH-Aktivität. Es besteht also die Möglichkeit, daß die verschiedenen Gonadotropine als ein einheitliches gonadotropes Hormon im Harn ausgeschieden werden, das sowohl follikelstimulierend als auch interstitiellstimulierend wirkt. Die Gonadotropine FSH und ICSH wären dann nur als prosthetische Gruppen einer gemeinsamen Eiweißträgersubstanz aufzufassen (COLLIP, 30).

Da die Gonadotropine nicht chemisch quantitativ zu bestimmen sind und die alten sogenannten Tiereinheiten wegen ihrer Unterschiedlichkeit in den einzelnen Laboratorien keine Vergleiche zuließen, wurde auf dem Gonadotropinclub 1953 in Genf eine international verbindliche Gonadotropineinheit eingeführt. Es handelt sich um das als Standard- und Eichpräparat gebrauchte Human-Menopausal-Gonadotrophin, abgekürzt HMG, das nach LORAINE und BROWN (65) FSH- und ICSH-Aktivitäten zu gleichen Teilen enthält. Das HMG läßt sich aus dem Harn von Frauen nach der Menopause in relativ gut gereinigter Form darstellen. Unter HMG versteht man also Gonadotropine, die im Harn von Frauen nach der Menopause vorkommen und die in ihrer Wirkung mit Gonadotropinen identisch zu sein scheinen, welche im Harn von geschlechtsreifen Frauen, Männern und Kindern gefunden werden. Diese letzteren Gonadotropine werden deshalb als HMG-Äquivalente bezeichnet.

B. Gonadotropine in der Pubertät

Als Pubertät bezeichnet man die Entwicklungsperiode, in der sich die primären und sekundären Geschlechtsmerkmale ausbilden und die Gonaden ihre sekretorische und inkretorische Reifung beginnen und vollenden (LABHART, 56; LAX, 58; MARTIUS, 71). Andere Autoren (SCHWENK und OHNDORF, 80) bezeichnen die Reifeentwicklung bis zur Menarche als Pubertät oder auch als Pubescenz (STUART, 84; MAIER, 70) und die sich anschließende Zeit der allmählich zum Abschluß kommenden Reifeentwicklung als Adoleszenz. NEURATH (73) versteht unter Pubescenz jedoch den sonst als Präpubertät benannten Zeitabschnitt, und für TRAMER (88) beginnt die Pubertät erst mit dem Zeitpunkt, an dem zum erstenmal reife Geschlechtsprodukte ausgeschieden werden.

Zeitlich beginnt diese Entwicklungsperiode beim Mädchen im 8.-14. Lebensjahr und endet mit der Geschlechtsreife im 14.-18. Lebensjahr. Äußerlich zeigt sich die Pubertät beim Mädchen durch folgende Merkmale: beschleunigtes Wachstum, auffallende Extremitätenlänge, Epiphysenschluß, Pubertätsakromegalie, Verbreiterung von Becken und Schulter, Brustdrüsenentwicklung (=Thelarche), Schambehaarung (=Pubarche), Axillarbehaarung und Menarche. Das auffälligste Merkmal, den Zeitpunkt der ersten Periodenblutung, der also im Zeitraum der Pubertät liegt, bezeichnet man als Menarche.

Diese äußeren Veränderungen sind jedoch nur Symptome von hormonalen Umstellungen im Organismus. Die Ovarien beginnen in der Pubertät ihre Hormone, zunächst vor allem Oestrogene, auszuschütten, was zur Entwicklung der primären und sekundären Geschlechtsmerkmale führt. Dieser Vorgang wird auch als Gonadarche bezeichnet (LABHART, 56)

An der Entwicklung der sekundären Geschlechtsmerkmale sind aber nicht nur die Ovarien, sondern auch die NNR-Hormone, besonders die Sexualbehaarung und das Wachstum betreffend, beteiligt. In Bezug auf die Androgenproduktion macht die NNR

analog den Gonaden ebenfalls eine schnelle Reifung durch; diese wird Adrenarche genannt (LABHART, 56). Die Gonadarche wird durch die beginnende Gonadotropinausschüttung des Hypophysenvorderlappens ausgelöst; durch Rückwirkung der Gonadarche kommt es wahrscheinlich zur Adrenarche. Der Hypophysenvorderlappen produziert zunächst überwiegend FSH, was zu Follikelwachstum mit Oestrogenproduktion führt. Der so stimulierte Follikel kann sich ohne Follikelsprung zurückbilden, so daß es besonders in der Pubertät zu einer Follikelabbruchblutung (= Oestrogenentzugsbildung) kommt (56, 58, 71). Dann spricht man von anovulatorischen Zyklen. Erst bei vermehrter LH-Bildung in der Adenohypophyse tritt der Follikelsprung mit anschließender Corpus-luteumbildung auf (56). Diesen Veränderungen in Gonaden und NNR entsprechend, läßt sich bereits vor der sichtbaren Pubertät ein Anstieg der 17-Ketosteroide, Androgene und Oestrogene nachweisen.

Die Ursache der Gonadotropinausschüttung ist unbekannt. Wahrscheinlich ist sie auf einen Impuls des im Tuber cinereum lokalisierten hypothalamischen Sexualzentrums zurückzuführen.

Eine pubertätshemmende Wirkung der Epiphyse, d.h. Enttrennung der Hypophyse durch die Epiphyseninvolutions in der Pubertät erscheint unwahrscheinlich (56), da nach Pinealektomie bei der Ratte kein Einfluß auf den Eintritt des Pubertätsalters nachweisbar war (GROLLMAN, 46). LANDAU und Mitarbeiter (57) fanden im Urin von Kindern einen gonadotropinhemmenden Faktor, der aber noch nicht bestätigt wurde.

III. METHODISCHER TEIL

A. Überblick über verschiedene Methoden zur quantitativen Gonadotropinbestimmung im Harn

Die Entwicklung rein chemischer Methoden zur quantitativen Bestimmung der Gonadotropine im Harn ist bisher nicht gelungen. Es wurden verschiedene Verfahren wie z.B. Extraktions- und Fällungsmethoden mit Papierelektrophorese, Zonenelektrophorese, Polarographie oder Chromatographie angewandt (BALLEHELAERS, 9; BOURRILLON und Mitarbeiter, 17, 19; BUTT und Mitarbeiter, 27, 28, 29; DRESCHER, 35; ALBERT, 3; SEGALOFF und STEELMAN, 82), ohne eine Reindarstellung zu erreichen. Wohl kann man alle Glykoproteide aus dem Harn isolieren, aber unter diesen befinden sich sicher auch gonadotrop inaktive Verbindungen (LORAIN und BROWN, 64).

Da eine chemisch quantitative Erfassung der Gonadotropine also bisher nicht möglich ist, muß man sich auf biologische Verfahren beschränken. Diesen allen ist gemeinsam:

1. die Herstellung eines Extraktes aus dem Urin, in dem die Gonadotropine angereichert sind (Extraktionsmethoden) und
2. die biologische Aktivitätsbestimmung dieses Extraktes durch Testung im Tierversuch (biologische Aktivitätsbestimmung).

Durch die langjährige wissenschaftliche Erfahrung mit diesen biologischen Bestimmungsmethoden werden verlässliche Ergebnisse erzielt (DICZFALUSY und HEINRICHS, 32).

Die Extraktionsmethoden verlaufen meist nach den folgenden Prinzipien:

1. Adsorption an inerte Substanzen,
2. Fällung (Präzipitation) durch organische oder anorganische Substanzen und Ultrafiltration.

Um die Wirkungen der Extrakte verschiedener Laboratorien vergleichen zu können, wird auf Vorschlag des Gonadotropinclubs (Birmingham 1955) das Definitionsprinzip der Tiereinheit verlassen und ein bestimmter Extrakt, nämlich das Gonadotropinpräparat HMG 20 der Firma Organon, Newhouse-Scotland, verwendet. Das Präparat HMG 20 A wird nach einem Spezialverfahren hergestellt und besitzt im Tierversuch die gleiche Wirkung wie HMG 20. Somit ist diejenige biologische Aktivität, die in 1 mg HMG 20 A enthalten ist, als eine HMG-Einheit definiert. Beim letzten Treffen des Gonadotropinclubs (Tel-Aviv 1963) wurde Pergonal 23 (Hersteller Instituto Serono, Rom) als internationaler Vergleichsstandard eingeführt (APOSTOLAKIS, 6).

Für die Bestimmung der Gesamtgonadotropine hat sich der Uterustest bei infantilen Mäusen nach LEVIN und TYNDALE (61) am besten bewährt. Die Uterusgewichtszunahme ist das Maß für die biologische Aktivität des gespritzten Extraktes. Die Tiere brauchen nicht hypophysektomiert werden, da die eigene Gonadotropinproduktion als zu gering vernachlässigt werden kann.

Zur Bestimmung der Gesamtgonadotropine im Harn ist die Extraktionsmethode nach LORAINE und BROWN (64) kombiniert mit dem Mäuseuterustest nach LEVIN und TYNDALE (61) das meist empfohlene und meist verbreitete Verfahren mit der größten wissenschaftlichen Erprobung und Erfahrung (6, 32). Es wird im folgenden beschrieben, da es für die eigenen Untersuchungen herangezogen wurde.

B. Angewandtes Verfahren.

Die Methode nach LORAINE und BROWN (64) zur Extraktgewinnung und die biologische Aktivitätsbestimmung nach LEVIN und TYNDALE (61)

1. Extraktion

Die Extraktion erfolgt nach folgenden drei Arbeitsgängen:

- a) Adsorption der Hormone an Kaolin
- b) Elution der Hormone aus der Kaolinsuspension
- c) Präzipitation der Hormone mit Aceton

Adsorption:

Die gesamte Tagesurinmenge wird gemessen und durch Zugabe von 1/10 HCl auf pH 4,0 eingestellt. Das pH-Meter (Firma L. Pusl, München) wird jeweils mit Pufferlösungen (Firma Riedel-de-Haen, Seelze-Hannover) geeicht. Pro 100 ccm Urin werden nun 2 g Kaolin (Bolus alba, Firma Merck, Darmstadt), suspendiert in 5 ccm aqua dest., zugegeben und anschließend der pH-Wert kontrolliert und falls verändert mit 1/10 HCl wieder auf pH 4,0 eingestellt. Diese Kaolinsuspension wird in einer Schüttelmaschine 45 Minuten lang geschüttelt und anschließend mindestens eine halbe Stunde in den Eisschrank gestellt, damit sich das Kaolin absetzt. Die dann überstehende Flüssigkeit gießt man zu 3/4 ab und der Rest wird bei 4000 Umdrehungen/min zentrifugiert. Die nun überstehende Flüssigkeit wird verworfen.

Elution:

Der zentrifugierte Kaolinsatz wird in soviel aqua dest. suspendiert, wie zur anfänglichen Suspension nötig war (d.h. 5 ccm aqua dest. pro 100 ml Urin) und mit 1/10 NaOH auf den pH 11,3 eingestellt. Diese alkalische Suspension bleibt 20 Minuten bei Zimmertemperatur stehen und wird anschließend 10 Min. lang bei 4000 Umdrehungen/min zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wird gesammelt und mittels 1/10 n HCl auf pH 5,0 justiert. Der Kaolinrest wird verworfen.

Präzipitation:

Der gewonnenen Flüssigkeit wird die fünffache Menge kalten Acetons dazugegeben. Zum Absetzen des Präzipitates verbleibt die Flüssigkeit mindestens eine halbe Stunde im Eisschrank. Dann wird wieder 3/4 der überstehenden Flüssigkeit abgesaugt und der Rest bei 4000 Umdrehungen/min 10 Min. lang zentrifugiert. Der Überstand wird weggegossen. Das Präzipitat wird nun noch mit absolutem Alkohol und Äther gewaschen und zwischen dem jeweiligen Waschen wieder zentrifugiert.

2. Reinigung der Extrakte zur Verringerung der Toxizität (64)

Das getrocknete Extraktpulver wird in 20 ml aqua dest. pro mg Trockenpulver aufgelöst und auf pH 8,3 eingestellt. Diese Suspension wird 20 Min. lang ständig umgerührt und anschließend 10 Min. lang bei 4000 Umdrehungen/min zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wird aufbewahrt. Der Rückstand wird erneut mit 5 ccm aqua dest. extrahiert, wieder 20 Min. lang umgerührt und zentrifugiert. Diese überstehende Flüssigkeit wird mit der ersten kombiniert. Zu dieser wässrigen Lösung werden 4 ml Tricalciumphosphatlösung (Firma Merck, Darmstadt) pro 25 ml wässriger Lösung gegeben und auf pH 8,3 justiert. Dies Gemisch wird 15 Min. lang umgerührt und anschließend zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wird auf pH 5,0 eingestellt und mit dem fünffachen Volumen Aceton präzipitiert. Das Präzipitat bleibt mindestens eine halbe Stunde im Eisschrank stehen und wird wieder 10 Min. lang bei 4000 Umdrehungen/min zentrifugiert. Anschließend wird ebenso wie bei der Extraktion der Rückstand mit absolutem Alkohol und Äther gewaschen. Dies die Gonadotropine enthaltende Endprodukt wird im Exsiccator über Calciumchlorid aufbewahrt.

3. Biologische Aktivitätsbestimmung

Die biologische Aktivitätsbestimmung der Gonadotropine im Tierversuch erfolgte im Mäuse-Uterus-Test nach den Angaben von LEVIN und TYNDAL (61). Die Modifikationen von TAUBERT (87) und WALTER (89) wurden berücksichtigt.

Als Versuchstiere werden infantile, weibliche, weiße Mäuse im Gewicht von 8-10 g verwendet. Diese Gewichtsklasse entspricht etwa drei Wochen alten Mäusen. Pro zu injizierende Dosis nimmt man eine Tiergruppe von mindestens vier Mäusen. Nach zufällig angeordneten Zahlen auf Grund der Tafeln von LINDER (62) werden aus einem Mäusekollektiv, deren Tiere den oben angegebenen Bedingungen entsprechen, die Mäusegruppen gebildet und den zu injizierenden Dosen zufällig zugeordnet. So wird eine einseitige Tierausswahl vermieden und statisti-

sche Fehler werden ausgeschaltet.

Die in physiologischer Kochsalzlösung aufgelösten Extraktmengen werden den Mäusen am Rücken subcutan injiziert. Die jeweilige Testdosis wird in 1 ml aufgelöst und den Tieren fraktioniert in drei 24-Stunden Intervallen gegeben, und zwar am ersten und zweiten Tag je 0,3 ml und am dritten Tag 0,4 ml. Dabei muß jede Einzeldosis auch innerhalb einer Tiergruppe mit der Spritze neu aufgezogen werden, um möglichst gleiche Konzentrationen im Spritzenzylinder zu erhalten. Am vierten Tag, also 72 Stunden nach der ersten Injektion, werden die Tiere mit Leuchtgas getötet, gewogen und gleich präpariert. Nach einem medialen Abdominalschnitt wird der Uterus mit Parametrien und Ovarien sowie Vagina in toto extirpiert. Die Gefäße und Parametrien werden mit der Pinzette abgestreift, die von den cornua uteri deutlich zu unterscheidenden Ovarien abgetrennt. Der Vaginarest wird am Beginn der Cervix uteri abgeschnitten und der im Cavum uteri befindliche Schleim ausgestrichen. Der frisch präparierte Uterus wird auf einem mit physiologischer Kochsalzlösung getränkten Filterpapier bis zur Wägung aufbewahrt. Die Wägung erfolgt mit einer vollautomatischen Analysenwaage (Firma Spoerhase, Giessen).

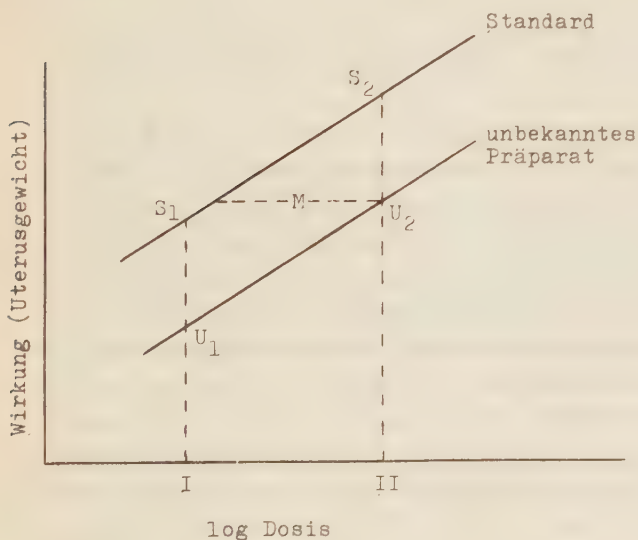
4. Statistische Auswertung der experimentellen Ergebnisse

a) Die Vier-Punkte-Methode

Um die biologische Aktivität eines Extraktes bestimmen zu können, muß dessen Wirkung im Tierversuch mit der Wirkung eines Extraktes mit bereits bekannter Aktivität (z.B. Laborstandard, HMG-20 A, Pergonal etc.) verglichen werden. Stellt man die biologische Wirkung, d.h. Uterusvergrößerung in Abhängigkeit von der gespritzten Extraktdosis dar (Abb. 1), so ergibt sich für alle Extrakte, vorausgesetzt sie besitzen die gleiche biologische Qualität, grundsätzlich eine teils gekrümmte, s-förmige Kurve (BOWMAN, 14). Im mittleren Abschnitt zeigt diese Kurve eine stetige lineare Steigung und verläuft gerade. Man spricht in diesem Bereich daher

von der Wirkungsgeraden. Alle gespritzten Dosen sollen im Bereich der Wirkungsgeraden liegen, denn nur hier ist die Bestimmung der Aktivität zuverlässig möglich (SUEKIRO, KIDOKOVO und SATO, 85). Außerdem sollen die beiden zu vergleichenden Wirkungsgeraden möglichst parallel verlaufen. Fallen die beiden Wirkungsgeraden zusammen, so hat der zu bestimmende Extrakt dieselbe Aktivität wie der Standard. Dies ist aber praktisch nie der Fall, sondern die beiden Wirkungsgeraden verlaufen meist verschieden parallel voneinander verschoben. Dieser unterschiedliche Verlauf wird durch die Vier-Punkte-Methode (BORTH, DICZFALUSY und HEINRICHS, 16; LINDER, 63) rechnerisch erfaßt.

Die Wirkungsgerade des Standards als auch die des unbekannten Präparates wird jeweils durch 2 Punkte, d.h. durch jeweils zwei Dosen ermittelt. Pro Dosis werden vier Tiere gespritzt; somit werden für eine Aktivitätsbestimmung 16 Mäuse benötigt.



Die Differenzen zwischen den Dosislogarithmen sollen bei Standard und unbekanntem Präparat gleich sein, d.h. der Quotient von Dosis I : II soll jeweils gleich groß sein.

Die Aktivität des unbekannten Extraktes ergibt sich unmittelbar aus dem Abstand der Wirkungsgeraden (M). Dies stellt sich rechnerisch folgendermaßen dar:

$$M = \log (\text{ermittelte Aktivität}) - \log (\text{vermutete Aktivit.})$$

Der Numerus von M, der Aktivitätsquotient R, ist also der Quotient dieser beiden Aktivitäten:

$$R = \frac{\text{ermittelte Aktivität}}{\text{vermutete Aktivität}} \quad \text{oder}$$

$$\text{ermittelte Aktivität} = R \times (\text{vermutete Aktivität}).$$

Die Zuverlässigkeit des so erhaltenen Resultates hängt von den Gültigkeitskriterien und den Präzisionsmaßen ab, und die Genauigkeit der Resultate wird durch die Vertrauensgrenzen angegeben.

b) Gültigkeitskriterien, Präzisionsmaße und Vertrauensgrenzen

Die mathematisch-statistischen Grundlagen zur Auswertung biologischer Versuchsergebnisse haben EMMENS (36); BORN, FINNEY und GOODWIN (15); BLISS und CATTELL (13); LINDER (62, 63) und GADDUM (41, 42, 43) erarbeitet. Von BORTH, DICZFALUSY und HEINRICHS (16) sind diese Erkenntnisse für Routineuntersuchungen vereinfacht dargestellt worden.

Die Gültigkeitskriterien sind die Voraussetzung zur Bestimmung der Vertrauensgrenzen. Sie werden durch folgende vier Bedingungen erfüllt:

1. durch die Regression, d.h. der Wirkungsmetameter muß mit steigender Dosis deutlich zu- oder abnehmen; je steiler die Wirkungsgerade, desto präziser ist die Bestimmungsmethode;

2. durch die Linearität, d.h. die Wirkungsgerade soll mit steigender Dosis geradlinig ansteigen;
3. durch die Parallelität, d.h. die Wirkungsgerade des Standard- und des unbekannten Präparates müssen parallel verlaufen. Liegt dies nicht vor, so sind die beiden Präparate qualitativ verschieden.
4. durch "gleiche Wirkung", d.h. Standardpräparat und unbekanntes Präparat sollen im Tierversuch quantitativ möglichst die gleiche Wirkung haben.

Nach Angaben FINNEYs wird mittels des sogenannten g -Kriteriums die Regression geprüft. Die Regression gilt als ausreichend, wenn g kleiner als 1,0 ist. Die Linearität ist durch graphische Darstellung zu prüfen. Parallelität (t_1) und gleiche Wirkung (t_2) sind erfüllt, wenn die rechnerisch ermittelten t_1 - und t_2 -Werte unter dem tabellarischen t -Wert (FINNEY, 40) liegen. Dieser beträgt für fünf Mäuse 2,11, für vier Mäuse 2,18.

Die Präzisionsmaße, die von der Versuchsanordnung und Maßeinheit unabhängig sind, werden nach GADDUM (41, 42) durch bzw. den reziproken Wert $L = 1/\lambda$ angegeben. Je kleiner λ desto größer ist die Präzision. Bei einer präzisen Methode ist L gleich oder größer 10 bzw. gleich oder kleiner als 0,1. Liegen die Werte außerhalb der genannten Grenzen, handelt es sich um eine ungenaue Methode.

Die Vertrauensgrenzen geben an, um welchen Bereich ein experimentell bestimmter Wert schwankt. Da bei biologischen Bestimmungen erfahrungsgemäß relativ große Fehler auftreten, kalkuliert man bei 20 Bestimmungen 1 Irrtum ein; d.h. die Vertrauensgrenzen schließen ein Irrtumsrisiko von 5 % ein. Je geringer der Abstand der Vertrauensgrenzen ist, desto genauer ist die Bestimmung. Zwei errechnete Werte, die jeweils im Vertrauensbereich des anderen Wertes liegen, werden als statistisch nicht different angesehen.

IV. SPEZIELLER TEIL - EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A. Die statistische Berechnung zur Bestimmung der biologischen Aktivität.

Die biologische Aktivität der Reinextrakte von Versuchspersonen und Laborstandard wurde nach der von BORTH, DICZFALUSY und HEINRICHS (16) vereinfachten mathematisch-statistischen Methode berechnet. Dabei soll

1. die Zahl der Testobjekte in allen Dosisgruppen gleich sein und
2. der Quotient bzw. die Differenz der Logarithmen zwischen den benachbarten Dosen gleich sein.

Letzteres läßt sich, wie die Experimente zeigten, bei Aktivitätsbestimmungen in der Pubertät meist nicht durchführen, da die Aktivität der Reinextrakte, verglichen mit dem Standard, also Extrakten von Frauen nach der Menopause, zu gering ist; die niedrigere Dosis muß, um eine deutliche Uterusvergrößerung zu bewirken, so hoch sein, daß die entsprechend höhere Dosis (beim Standard meist doppelt so hoch) bereits toxisch wirkt. Durch den verschiedenen Abstand der Dosislogarithmen ergibt sich für beide Wirkungsgeraden ein verschiedener Regressionskoeffizient. LINDER (63) hat für diesen Fall eine Methode angegeben, mit der ein gemeinsamer Regressionskoeffizient berechnet werden kann (siehe folgende Beispiele). Es folgt ein Beispiel einer Aktivitätsbestimmung mit gleichzeitiger Umrechnung auf die Tagesausscheidung in HMG-Einheiten. In gleicher Weise wurden alle Gonadotropinausscheidungen der Mädchen in der Pubertät berechnet, ebenso die Aktivität des Laborstandards, der mit einem Laborstandard von MACKERT (69) verglichen wurde, dessen Aktivität bereits in HMG-Einheiten bestimmt war.

Beispiel einer rechnerischen Bestimmung bei gemessener biologischer Wirkung:

	unbekanntes Präparat		bekanntes Präparat (Stand.)	
	Dosis 64	Dosis 96	Dosis 4	Dosis 8
	12,1	12,4	19,8	32,5
	13,7	21,7	13,3	20,1
	14,4	43,6	15,7	42,5
	9,1	16,9	11,5	27,2
Summe	49,3	94,6	60,3	122,3
Durchschnitt	12,3 = U_1	23,6 = U_2	15,1 = S_1	30,6 = S_2
Spannweite	5,3	31,2	8,3	22,4

A. Vergleiche

=====

$U = 12,3$	$U = 23,6$	$S = 15,1$	$S = 30,6$
$U = 23,6$	$U = 12,3$	$S = 30,6$	$S = 15,1$

$$U_1 + U_2 = 35,9 \quad U_2 - U_1 = 11,3 \quad S_1 + S_2 = 45,7 \quad S_2 - S_1 = 15,5$$

$$\text{Regression: } 1/2 (U_2 - U_1 + S_2 - S_1) = \frac{11,3 + 15,5}{2} = 13,4 = E$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitätsunterschied: } 1/2 (U_1 + U_2 - S_1 - S_2) \\ = \frac{35,9 - 45,7}{2} - 9,8 = F \end{aligned}$$

$$\text{Parallelität: } U_2 - U_1 - (S_2 - S_1) = 11,3 - 15,5 = -4,2 = G$$

B. Resultat

=====

Quotient der benachbarten Dosen:

$$96/64 = 3/2 = 1,5 = J'$$

$$8/4 = 2 = J''$$

Abstand der Dosislogarithmen:

$$\log J' = \log 1,5 = 0,1761 = I'$$

$$\log J'' = \log 2 = I''$$

Regressionskoeffizient:

$$E/I' = \frac{13,4}{0,176} = 76,2 = b'$$

$$E/I'' = \frac{13,4}{0,301} = 44,5 = b''$$

$$(\text{gemeinsames}) b = \frac{b'S' + b''S''}{S' + S''}$$

$$S = \sum_{i=1}^N x_i^2 - \frac{T^2}{N}$$

$$T = \sum_{i=1}^N x_i$$

x_i'	$x_i'^2$	x_i''	$x_i''^2$
12,1	146,4	19,8	392,4
13,7	187,6	13,3	176,8
14,4	207,3	15,7	246,4
9,1	82,8	11,5	132,2
12,4	153,7	32,5	1056,2
21,7	470,8	20,1	404,0
43,6	1900,9	42,5	1806,2
16,9	285,6	27,2	739,8
143,9	3435,1	182,6	4954,0

$$S' = 3435,1 - \frac{20707}{8} = 846,8$$

$$S'' = 4954,0 - \frac{33343}{8} = 4954 - 4167,8 = 786,2$$

$$b = \frac{76,2 \times 846,8 + 44,5 \times 786,2}{846,8 + 786,2} = \frac{99530,0}{1633,0} = 60,95 = b$$

Abstand der Wirkungsgeraden:

$$F/b = \frac{-9,8}{60,95} = -0,161 = 0,839 - 1 = M$$

Aktivitätsquotient: $\text{antilog } M = \text{antilog } (0,839) = 0,6902 = R$

Vermutete Aktivität: 1,150 HMG-E. in 64 mg bzw.

2,301 HMG-E. in 96 mg bei einer
Tagesausscheidung von 107,5 mg
also 1,928 HMG-E./24 Std.

Ermittelte Aktivität:

$$0,6902 \times 1,928 = 1,3308 \text{ HMG-E./24 Std.}$$

C. Streuungen

=====

Gleiche Anzahl der Tiere $n=4$ in allen Gruppen

$$\text{also } \bar{n} = f_n = 0,486$$

Anzahl der Gruppen: $k' + k = 2 + 2 = 4$

$$\text{Durchschnittliche Spannweite: } \frac{5,3 + 31,2 + 8,3 + 22,4}{4} = 16,4$$

$$\text{Standardabweichung: } 16,4 \times 0,486 = 7,97 = s$$

$$\text{Reststreuung (der Einzelwerte): } 7,97^2 = 63,52 = s^2$$

$$\text{Freiheitsgrad: } S(n-1) = 4 \times 3 = 12$$

$$\begin{aligned} \text{Streuung der Gruppendurchschnitte: } s^2/n &= \frac{63,52}{4} \\ &= 15,88 = V \end{aligned}$$

$$\text{Streuung der Vergleiche: } V(E) = 3,98^2 = 15,88$$

$$A = V(F) = 3,98^2 = 15,88$$

$$V(G) = 4 \times V = 7,97^2 = 63,52$$

Streuung der Regressionskoeffizienten:

$$E/I = b$$

$$I = E/b$$

$$I = \frac{13,4}{60,95} = 0,22$$

$$I^2 = 0,0484$$

$$\frac{V(E)}{I^2} = \frac{15,88}{0,0484} = V(b) = 328,2$$

D. Gültigkeitskriterien

=====

Tafelwert von $t = 2,18$ für Freiheitsgrad 12

$$\text{Regression: } t^2 \times V(b)/b^2 = \frac{4,44 \times 328,2}{3714,9} = 0,3924 = g$$

$$\text{Parallelität: } t = \frac{G}{\sqrt{V(G)}} = \frac{-4,2}{7,92} = -0,531$$

$$\text{Gleiche Wirkung: } t = \frac{F}{\sqrt{V(F)}} = \frac{-9,8}{7,92} = -1,24$$

E. Präzisionsmaße

=====

$$s/b = \frac{7,97}{60,95} = 0,131 = \lambda$$

$$b/s = 1/\lambda = 7,64 = L$$

F. Vertrauensgrenzen

=====

$$\begin{aligned} M_o, M_u &= \frac{M}{1-g} \pm \frac{t}{b(1-g)} \sqrt{A(1-g) + M^2 \times V(b)} \\ &= \frac{-0,161}{0,6076} \pm \frac{2,18}{60,95 \times 0,6076} \sqrt{15,88 \times 0,6076 + 0,161^2} \\ &= -0,265 \pm 0,2493 \end{aligned}$$

$$M_u = -0,265 - 0,2493 = -0,5143 = 0,4857 - 1$$

$$\text{antilog } M_u = 0,306 = R_u$$

$$M_o = -0,265 + 0,2493 = -0,0157 = 0,9843 - 1$$

$$\text{antilog } M_o = 0,9645 = R_o$$

$$M_u = \frac{100 \times 0,306}{0,6902} = 44,4 \%$$

$$M_o = \frac{100 \times 0,9645}{0,6902} = 139,9 \%$$

Die Gültigkeitskriterien sind erfüllt:

t_1, t_2 sind kleiner als der Tafelwert 2,18.

Die Präzisionsmaße λ bzw. L zeigen, daß eine ausreichende Präzision erreicht wurde. Das Resultat und die Berechnung der Vertrauensgrenzen besagen, daß bei einem Irrtumsrisiko von 5 % die Tagesausscheidung 1,86 HMG-E. beträgt und daß sie zwischen der oberen und unteren Vertrauensgrenze, d.h. zwischen minimal 1,54 HMG-E. und maximal 2,23 HMG-E. liegt.

B. Herstellung des eigenen Gonatropin-Laborstandards

Der Laborstandard wurde wie bei allen Probandinnen durch Extraktion und Tricalciumphosphatreinigung gewonnen und seine Aktivität analog allen Aktivitätsbestimmungen (siehe Kapitel IV A) berechnet. Zur Gewinnung wurden bei 7 Frauen, wenige Jahre nach der Menopause, jeweils zwei 24-Std.-Urine gesammelt und verarbeitet. Dabei konnte aus 9,118 l Urin 4,44 g Rohextrakt und 1,75 g Reinextrakt gewonnen werden. Die Aktivität pro mg Laborstandard betrug 0,288 HMG-Einheiten; sie lag wesentlich höher als die durchschnittliche aller Probandinnen mit 0,016 HMG-E., d.h. der Laborstandard hatte eine 17mal stärkere biologische Aktivität als der Reinextrakt bei den Probandinnen. Verglichen mit dem Laborstandard von MACKERT (69), dessen Aktivität mit Hilfe des HMG-25 Standard (1 mg = 1,13 HMG-E.) der Firma Organon bereits in HMG-E. bestimmt werden konnte, war die Aktivität des in dieser Arbeit benutzten Laborstandards 3,73 mal schwächer bzw. er war 3,9 mal schwächer als der HMG-25 Standard.

C. Die Gonadotropinausscheidung im Harn bei Mädchen in der Pubertät

Bei 7 gesunden Mädchen in der Pubertät im Alter von 9 bis 16 Jahren wurden die 24-Stunden-Urinportionen von 6 - 12 Tagen gesammelt und zur Bestimmung der Gonadotropine verarbeitet. Die Aktivitätsangabe erfolgte in HMG-Einheiten durch einen Vergleich des eigenen Laborstandards mit dem Laborstandard von MACKERT (69). Vier der Mädchen befanden sich vor der Menarche, 3 Mädchen einige Monate, maximal 14 Monate, nach der Menarche. Es sollte die durchschnittliche tägliche Gonadotropinausscheidung im Harn bei den einzelnen Probandinnen bestimmt und geprüft werden, ob z.Z. der Menarche eine Veränderung der Gonadotropinausscheidung festgestellt werden kann.

Im einzelnen handelte es sich um folgende Probandinnen:

- A.: Gertrud D., 11 Jahre alt, befand sich 20 Monate vor der Menarche.
- B.: Ulla K., 9 Jahre alt, befand sich mindestens 4 Jahre vor der Menarche. Zum Zeitpunkt der Niederschrift der Arbeit war die Menarche noch nicht aufgetreten.
- C.: Sylvia M., 15 Jahre alt, befand sich 8 Monate vor der Menarche.
- D.: Hannja T., 9 Jahre alt, befand sich mindestens 3,5 Jahre vor der Menarche; es trat nach 42 Monaten eine einzige, wahrscheinlich anovulatorische Blutung auf; in dem folgenden halben Jahr trat bisher keine weitere Blutung auf.
- E.: Ingeborg L., 15 Jahre alt, befand sich 6 Monate nach der Menarche.
- F.: Gisela Sch., 15 Jahre alt, befand sich 8 Monate nach der Menarche.
- G.: Helga H., 16 Jahre alt, befand sich 14 Monate nach der Menarche.

1. Roh- und Reinextraktmengen

Bei den 7 Mädchen wurden insgesamt 48,1 l Urin gesammelt. Daraus ergaben sich 19,4 g Rohextrakt und durch die Tricalciumphosphatreinigung 692 mg Reinextrakt. Die Rohextraktmenge pro Tag bei den einzelnen Probandinnen (Tab. 8) unterlag großen Schwankungen, während die entsprechenden täglichen Reinextraktmengen keine großen Unterschiede zeigten. Die Reinextraktmengen pro Tag blieben bei den einzelnen Probandinnen unabhängig von der Urinmenge und Rohextraktmenge weitgehend konstant; dies spricht dafür, daß es sich beim Reinextrakt um ein einheitliches Substanzgemisch handelt, und daß die Extraktion und Tricalciumphosphatreinigung eine weitgehend gleiche Substanz übrigläßt.

Wie Abb.2 deutlich zeigt, ergab sich kein konstantes Verhältnis zwischen ausgeschiedener täglicher Urinmenge und Rohextraktmenge oder zwischen Roh- und Reinextraktmenge. Ein Vergleich zwischen Abb.2 und Abb.3 zeigt, daß zwischen dem täglich gewonnenen Reinextrakt und der 24-Stunden-Aktivität in HMG-E. bei den einzelnen Probandinnen kein konstantes Verhältnis bestand, d.h. die Reinextraktmenge läßt keine Rückschlüsse auf die Gonadotropinausscheidung zu bzw. nur mit Hilfe des biologischen Mäuse-Uterus-Testes ist die Bestimmung der Gonadotropinausscheidung möglich.

Insgesamt wurden 297 weibliche, infantile Mäuse, 8,5 - 10,5 g schwere, mit Reinextrakten von 1 mg - 136 mg subcutan gespritzt. Dabei gingen 14 Mäuse zugrunde, was einer Sterbequote von 4,7 % entspricht. Bei den hohen Dosen verendeten die meisten Mäuse.

2. Die Gonadotropinausscheidung in HMG-Einheiten

Wie aus Abb.1 hervorgeht, erreichte die Wirkungsgerade bei den einzelnen Probandinnen in einem Dosisbereich von 40 - 105 mg Reinextrakt genügende Steilheit zur statistischen Auswertung. In einem Fall (Probandin D) trat trotz höchster Dosierung kein Anstieg auf (Abb.1). Die entsprechenden Uterusgewichtswerte lagen zwischen 10 - 40 mg, das durchschnittliche Uterusgewicht von unbehandelten Mäusen (Gewicht 8,5 bis 10,5 g) betrug 6,8 mg.

Auf Grund der geringeren Gonadotropinausscheidung und der damit notwendigerweise höheren Dosierung beim Mäuse-Uterus-Test, war in den meisten Fällen ein 5-Tage-Extrakt, mindestens ein 3-Tage-Extrakt, zu einer Aktivitätsbestimmung notwendig. Somit stellen die ermittelten Gonadotropintageausscheidungen Mittelwerte dar, die aus mehreren (mindestens fünf) gesammelten Tagesurinen bestimmt wurden.

Die Aktivität pro mg Reinextrakt betrug im Durchschnitt bei den 7 Probandinnen 0,016 HMG-E., maximal 0,024 HMG-Einhei-

ten, minimal 0,010 HMG-Einheiten (Tab.16).

Bei geschlechtsreifen Frauen ist die durchschnittliche Aktivität pro mg Reinextrakt ungefähr dreimal so groß (nach MACKERT, 69).

Die Gonadotropinausscheidung pro Tag bei den 7 Probandinnen betrug im Durchschnitt 1,75 HMG-Einheiten, maximal 2,60 HMG-Einheiten, minimal 1,09 HMG-Einheiten (Tab.16).

Im einzelnen ergaben sich bei den 7 Probandinnen (siehe S. 22) folgende Resultate (vgl. Tab.16):

1. Probandin A., 11 Jahre alt:

Die Tagesausscheidung an Gesamtgonadotropinen, als Mittelwert aus 12 Tagesurinen bestimmt, betrug 2,60 HMG-Einheiten. Die untere Vertrauensgrenze lag bei 1,70 HMG-Einheiten, die obere Vertrauensgrenze bei 3,46 HMG-Einheiten.

2. Probandin B., 9 Jahre alt:

Die Ausscheidung an Gesamtgonadotropinen pro 24 Stunden, als Durchschnitt aus 12 Tagesurinen ermittelt, ergab 1,51 HMG-Einheiten. Die obere Vertrauensgrenze lag bei 2,02 HMG-Einheiten, die untere Vertrauensgrenze bei 0,62 HMG-Einheiten.

3. Probandin C., 15 Jahre alt:

Die Gesamtgonadotropinausscheidung im 24-Std.-Urin, als Mittelwert aus 6 Tagesurinen berechnet, ergab 1,09 HMG-Einheiten. Die obere Vertrauensgrenze lag bei 1,20 HMG-Einheiten, die untere bei 0,97 HMG-Einheiten.

4. Probandin D., 9 Jahre alt:

Trotz Injektion von höchsten Dosen Reinextrakt zeigte die Wirkungsgerade keinen Anstieg (Abb.1), d.h. die Aktivität des Reinextraktes bzw. die Ausscheidung an Gesamtgonadotropinen war gleich null. Es wurde der Urin von 12 Tagen gesammelt und es ergaben sich den anderen Probandinnen entsprechende, d.h. normale Roh- und Reinextraktmengen (Tab.8).

5. Probandin E., 15 Jahre alt:

Die Gesamtgonadotropinausscheidung pro Tag, ermittelt aus 10 Tagesurinen, betrug 1,33 HMG-Einheiten. Die obere Vertrauensgrenze lag bei 1,85 HMG-Einheiten, die untere bei 0,59 HMG-Einheiten.

6. Probandin F., 15 Jahre alt:

Die Tagesausscheidung an Gesamtgonadotropinen, als Durchschnitt aus 10 Tagesurinen bestimmt, betrug 1,86 HMG-Einheiten. Die obere Vertrauensgrenze lag bei 2,23 HMG-Einheiten, die untere bei 1,53 HMG-Einheiten.

7. Probandin G., 16 Jahre alt:

Die Gesamtgonadotropinausscheidung pro Tag, als Mittelwert aus 6 Tagesurinen errechnet, ergab 2,09 HMG-Einheiten. Die obere Vertrauensgrenze lag bei 2,99 HMG-Einheiten, die untere bei 1,36 HMG-Einheiten.

Die durchschnittliche tägliche Gesamtgonadotropinausscheidung aller 7 Probandinnen betrug 1,75 HMG-E., bei den Probandinnen vor der Menarche 1,30 HMG-Einheiten und bei denen nach der Menarche 1,76 HMG-Einheiten. Diese durchschnittliche 24-Stunden-Aktivität von den Mädchen nach der Menarche liegt fast noch innerhalb der durchschnittlichen Vertrauensgrenzen von den Mädchen vor der Menarche (0,82 - 1,67 HMG-E.).

3. Statistische Sicherung der Ergebnisse

In Tab. 16 finden sich die berechneten Gültigkeitskriterien, die Präzisionsmaße und die Vertrauensgrenzen zusammengefaßt. Es zeigt sich, daß die Regression bei allen Probandinnen wesentlich kleiner als 1,0 und t_1 als auch t_2 immer kleiner als der Tafelwert $t = 2,18$ waren. Somit sind die Gültigkeitskriterien erfüllt. Die Präzisionsmaße λ bzw. L lassen erkennen, daß eine genügende Präzision erreicht wurde, da kein Wert von L unter 2,5 liegt. Die durchschnittlichen oberen

und unteren Vertrauensgrenzen lagen bei 130,6 % bzw. 61,3 %, was bei einer biologischen Testmethode als sehr zufriedenstellend bezeichnet werden kann. Nach BORTH, DICZFALUSY und HEINRICHS (16) sind Schwankungen um 400 % für klinische Betrachtungen noch verwertbar.

V. DISKUSSION DER METHODE UND DER ERGEBNISSE

Ein Vergleich der von verschiedenen Autoren nach der Methode von LORAINE und BROWN gewonnenen Extraktmengen findet sich in Tab. 8. Die Rohextraktausbeute betrug bei LORAINE und BROWN (66) 2,87 mg und bei BUCHHOLZ (26) 1,86 mg pro 10 ml Urin. Die eigenen Werte lagen mit 4,36 mg wesentlich höher, ebenso wie die Werte von GÖRDES (44) und MACKERT (69), deren Ergebnisse auch aus unserem Labor stammen. Diesen unterschiedlich gewonnenen Extraktmengen kommt sicher keine Bedeutung in Bezug auf den Gonadotropingehalt bzw. auf die biologische Aktivität zu. Das zeigt sich beim Vergleich zwischen den Extrakten, die aus dem Urin von geschlechtsreifen Frauen oder Mädchen in der Pubertät bzw. Frauen nach der Menopause (= Laborstandard) gewonnen wurden. So besteht z.B. bei den eigenen Untersuchungen zwischen den Rohextrakten aus Urinen von Frauen nach der Menopause (4,8 mg) und Mädchen in der Pubertät (4,36 mg) praktisch kein Unterschied, während der erstgenannte Extrakt eine 17-mal größere Aktivität besitzt. Dies bedeutet wiederum, daß die Gonadotropine selbst einen ganz kleinen, praktisch nicht meßbaren Gewichtsanteil des Rohextraktes ausmachen.

Wie andere Autoren (21, 26, 53, 69) konnten wir bestätigen, daß zu einer biologischen Gonadotropinaktivitätsbestimmung mehr als ein Tagesurin nötig ist. Aufgrund der geringen Gonadotropinkonzentration im Harn bei Mädchen in der Pubertät mußten wir bei Anwendung der Vier-Punkte-Methode mindestens 6 Tagesurine verwenden, um eine Aktivitätsbestimmung durchführen zu können. Mit einem 2-Tagesurinäquivalent war zwar schon eine Uterusvergrößerung zu erreichen, das Ergebnis war aber nicht statistisch auszuwerten und zu sichern.

Wegen der geringen biologischen Aktivität der Extrakte war es außerdem nötig, den Versuchstieren hohe Dosen zu spritzen, was aus dem geringen Anstieg der Kurven bei den einzelnen

Probandinnen (Abb. 1) hervorgeht. Beim Menopausenstandard genügten 4 - 8 mg, um eine ausreichende Uterusvergrößerung zu erzielen, während bei den Probandinnen 32 - 96 mg für die gleiche Wirkung nötig waren. Durch die hohen Extrakt Dosen gerieten relativ viele Tiere trotz zweifacher Tricalciumphosphatreinigung in einen schlechten Allgemeinzustand; d.h. sie saßen teilnahmslos in einer Ecke, zeigten kaum noch irgendwelche Reaktionen, fraßen und tranken nicht mehr, das Fell wurde struppig und man beobachtete Haarausfall. Diese toxische Wirkung kann u.U. die Uterusreaktion beeinflussen und möglicherweise die Ergebnisse verfälschen.

Bei extrem hohen Extrakt Dosen (siehe Abb. 1, Probandin D) ist mit einer erhöhten Tiersterblichkeit zu rechnen. Hier zeigte die Methode ihre Grenzen. Bei GÖRDES (44) und MACKERT (69) lagen die Tierverluste wesentlich niedriger, da sie wegen größerer Aktivität nicht so hohe Reinextrakt Dosen spritzen mußten. Der Dosisbereich lag bei Frauen im Zyklus (MACKERT, 69) zwischen 1 und 64 mg, während bei Mädchen in der Pubertät der Dosisbereich meist zwischen 64 und 96 mg, maximal bis 136 mg, lag. Nach LORAINE und BROWN (66) muß man bei einer Dosis über 2 mg Reinextrakt mit einer Tiersterblichkeit bis zu 5,2 % rechnen.

Eine weitere Schwierigkeit ergab sich wegen der geringen biologischen Aktivität der Extrakte bei der statistischen Auswertung. Nur in den wenigsten Fällen war es möglich, die Differenz zwischen den Dosislogarithmen bzw. den Quotienten der gespritzten Dosen vom Standard und vom unbekannten Präparat gleich groß zu halten (siehe Kapitel III, B 4). Dies sei an einem Beispiel gezeigt: Wenn als Standarddosis 2 und 4 mg bzw. 4 und 8 mg gespritzt wurde (Quotient jeweils 2), bei dem unbekannten Präparat jedoch erst 64 mg eine deutliche Uterusvergrößerung bewirkten, so hätte man dem Tier als zweite Dosis 128 mg injizieren müssen. Diese Dosis wäre aber zu toxisch gewesen. Es mußte also eine niedrigere Dosis gewählt werden; dies hatte zur Folge, daß sich für Standard und unbekanntes Präparat zwei verschiedene Re-

gressionskoeffizienten ergaben. Die Berechnung des gemeinsamen Regressionskoeffizienten erfolgte in diesen Fällen nach der in dem Beispiel im Kapitel IV A nach LINDER (63) angegebenen Methode.

Über die Ausscheidung der Gesamtgonadotropine im Harn bei Kindern und Mädchen in der Pubertät liegen erst relativ wenige Arbeiten anderer Autoren vor. Es handelt sich dabei meist um keine kasuistischen Untersuchungen, wie in der vorliegenden Arbeit, sondern um Ergebnisse aus Sammelurinen verschiedener Personen, wie z.B. bei Schulklassen etc. Ein direkter Vergleich der Ergebnisse ist leider durch die Verwendung verschiedener Standards oder verschiedener Methoden erschwert.

Aufgrund der Arbeiten über die Gonadotropinausscheidung bei der geschlechtsreifen Frau und Frauen im Klimakterium ist zu erwarten, daß die Gonadotropinproduktion der Hypophyse irgendwann vorher einsetzen muß; dabei stellt sich die Frage, in welchem Alter dies geschieht, ob bzw. wieviele Jahre sie vor der Menarche auftritt und wie hoch sie durchschnittlich im Vergleich zu derjenigen bei der geschlechtsreifen Frau ist.

Praktisch alle Autoren konnten im Urin von Kindern keine oder nur gelegentlich Gonadotropine nachweisen, selbst bei Mädchen mit echter pubertas praecox und frühzeitiger Pubertät erst ab dem 10. Lebensjahr (BULBROOK, 27). Eine Ausnahme machen KNAPPE und Mitarbeiter (55). Sie glauben mit einer besonders empfindlichen biologischen Testmethode, die auf einem synergistischen Effekt mit zugegebenem HCG beruht, schon bei normalen Knaben ab dem 3. Lebensjahr Gonadotropine nachgewiesen zu haben. Diese Methode und ihre Ergebnisse bedürfen aber noch der Bestätigung durch andere Autoren.

Als wichtigstes Ergebnis der vorliegenden Untersuchungen wurde bei allen Probandinnen, sowohl vor der Menarche (maximal 4 Jahre) als auch nach Eintritt der Menarche (maximal 14 Monate) eine wesentlich geringere Harngonadotropinausschei-

dung im Vergleich zu Frauen in der Geschlechtsreife (siehe Abb.4) festgestellt. Bei einer 9-jährigen Probandin war die Gonadotropinausscheidung gleich null. Die früheste Gonadotropinausscheidung konnte bei zwei 9-jährigen Mädchen und bei einem dieser 9-jährigen Mädchen bereits vier Jahre vor der Menarche nachgewiesen werden. Nach NATHANSON (72) und GREULICH (45) können Gonadotropine im Urin nicht vor dem 11. Lebensjahr nachgewiesen werden, nach SCHWENK (81) nicht vor dem 10. Lebensjahr; SCHWENK und OHNDORF (80) fanden die früheste Ausscheidung bei einem 10-jährigen Mädchen, und nach BUCHHOLZ (25) beginnt die Gonadotropinausschüttung im 11. Lebensjahr. JOHNSON (52, 53) gibt an, daß die Gonadotropinausscheidung vor dem 9. Lebensjahr und ihr Fehlen nach dem 13. Lebensjahr als pathologisch anzusehen sei.

Ein deutlicher Unterschied der Ausscheidung zwischen den Probandinnen vor und nach der Menarche ließ sich nicht feststellen. Auf Grund der Arbeiten von NATHANSON (72, qualitative Methode) treten die Gonadotropine generell ca. 1 Jahr, nach den Untersuchungen von JOHNSON (52, 53) schon 2,5 Jahre vor der Menarche auf. Wir fanden bereits bei einem 9-jährigen Mädchen mindestens 4 Jahre vor der Menarche Gonadotropine im Urin.

Daraus folgt, daß die Gonadotropinausscheidung bei den einzelnen Individuen in gleichen Altersgruppen sehr unterschiedlich ist; möglicherweise spielen bei der Auslösung der Menarche noch andere Faktoren als der Gonadotropinspiegel eine Rolle. Für das Einsetzen der Gonadotropinausscheidung ist anscheinend mehr die allgemeine körperliche Entwicklung als das chronologische Alter von Bedeutung (APOSTOLAKIS, 6; LABHART, 57). Auch SCHWENK und OHNDORF (80) fanden in gleichen Altersgruppen starke Schwankungen; bei Mädchen kurz nach der Menarche wurden sogar einerseits keine Gonadotropine bzw. nur eine intermittierende Ausscheidung mit Pausen von 4-8 Wochen gefunden, andererseits war die Höhe der Gonadotropinausscheidung nicht selten ebenso groß bzw. lag sogar über der von geschlechtsreifen Frauen. JOHNSON (52, 53) stellte

nur einen geringen Unterschied in der Gonadotropinausscheidung zwischen Mädchen in der Pubertät und menstruierenden Frauen fest. P.S.BROWN (23) fand bei Mädchen im Alter von 10 - 15 Jahren durchschnittlich 9,8 HMG-20-E. pro Liter; diese Werte liegen deutlich über den unseren (2,5 HMG-Einheiten pro Liter).

Nach APOSTOLAKIS und VOIGT (6) liegt die Gonadotropinausscheidung bei Kindern durchschnittlich unter 2 HMG-Einheiten/24 Std., was unseren Ergebnissen entspricht.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Einleitend wurde auf Grund von Literaturangaben über die Gonadotropine des Hypophysenvorderlappens berichtet. Es folgte eine Charakterisierung der Pubertät und der teils hypothetischen, teils experimentell belegten Vorstellungen, die die Gonadotropine in dieser Entwicklungsperiode spielen.

Daran schloß sich eine ausführliche und kritische Beschreibung der hier angewandten Methode zur Bestimmung der Gesamtgonadotropinausscheidung im Harn an. Es handelte sich um die Extraktionsmethode nach LORAINÉ und BROWN (64) mit dem Mäuse-Uterus-Test nach LEVIN und TYNDALÉ (61) und um die statistische Berechnung nach BORTH, DICZFALUSY und HEINRICHS (16), vereinfacht nach GADDUM (42) und ergänzt durch LINDER (63). Durch Vergleich mit dem Standard HMG-20 A konnten die Ergebnisse in den internationalen HMG-Einheiten angegeben werden.

Auf diese Weise wurden die Gesamtgonadotropine von 7 Mädchen in der Pubertät, 4 vor der Menarche und 3 nach der Menarche, bestimmt. Mindestens 4 Tagesurine, meistens 6 Tagesurine, mußten für eine Testung verarbeitet werden. Dabei ergab sich bei den 7 Mädchen eine durchschnittliche Tagesausscheidung der Gesamtgonadotropine von 1,75 HMG-Einheiten. Der Maximalwert betrug 2,60 HMG-E., der Minimalwert 1,09 HMG-Einheiten. Verglichen mit der Tagesausscheidung in der Geschlechtsreife lag der Durchschnitt um das 4,5 fache niedriger (MACKERT, 69). Ein signifikanter Unterschied in der Gesamtgonadotropinausscheidung zwischen den Mädchen vor und nach der Menarche ergab sich nicht.

TABELLEN UND ABBILDUNGEN

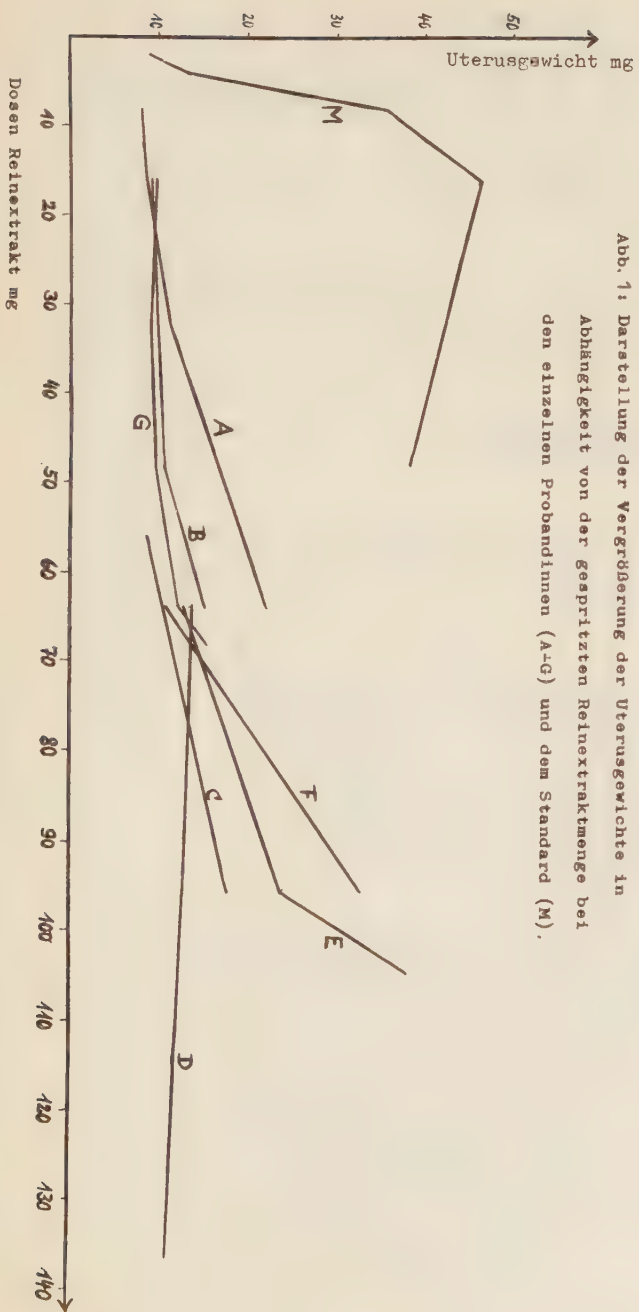


Abb. 1: Darstellung der Vergrößerung der Uterusgewichte in Abhängigkeit von der gespritzten Reineextraktmenge bei den einzelnen Probandinnen (A-G) und dem Standard (M).

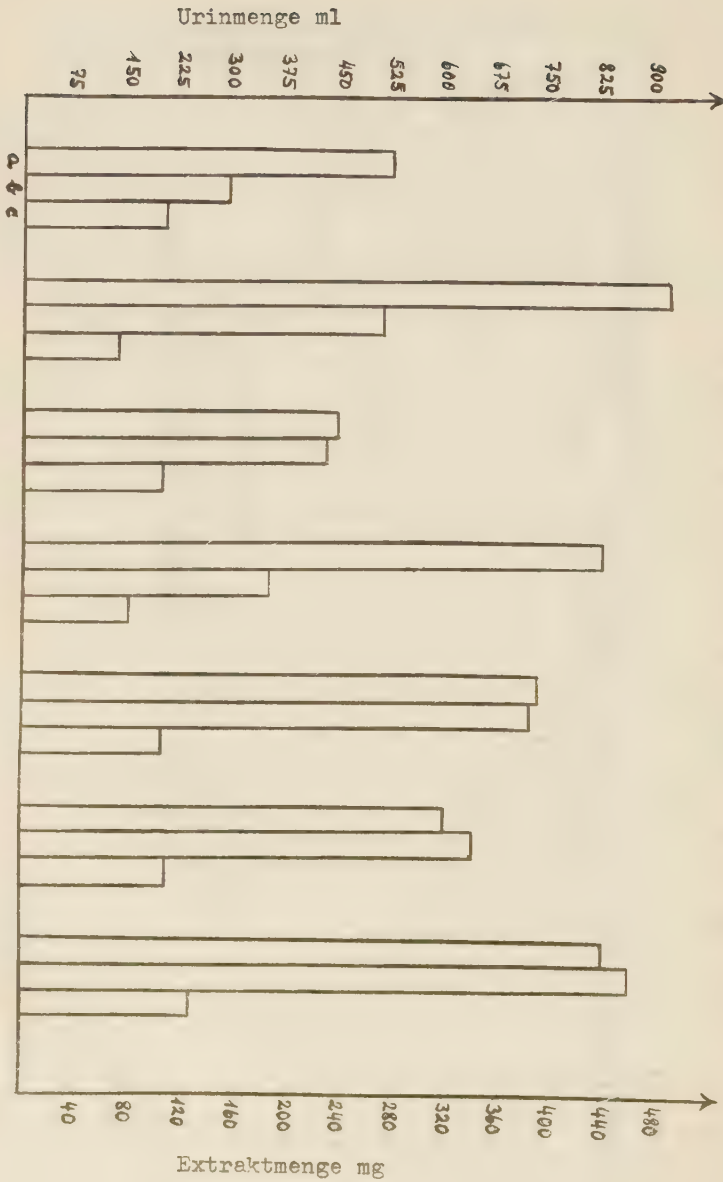


Abb. 2: Darstellung der durchschnittlichen 24-Std -Harmengen(a) und der daraus gewonnenen Roh-(b) und Reineextraktmengen(c) pro Tag bei den einzelnen Probandinnen.

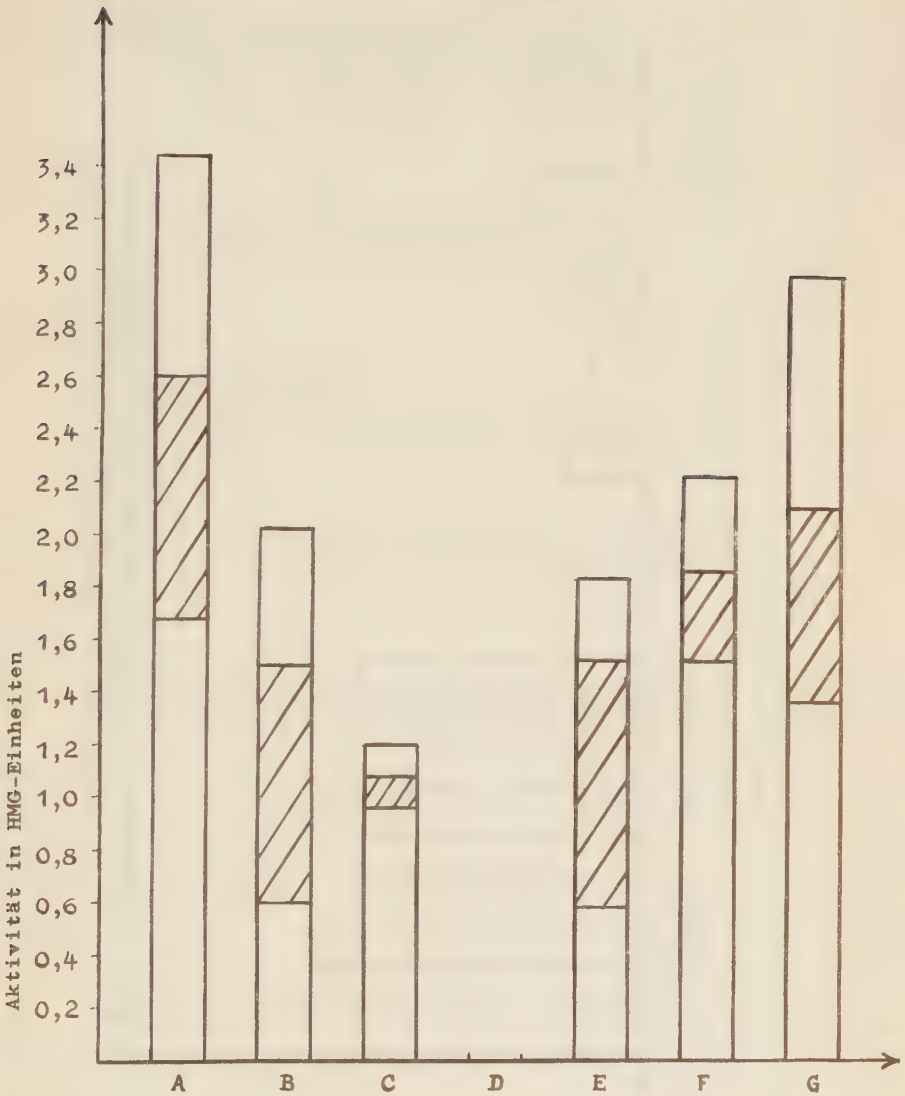


Abb.3: Darstellung der 24-Stunden-Aktivität der Gesamtgonadotropine des Harns mit oberer und unterer Vertrauensgrenze bei 7 Mädchen in der Pubertät.
A,B,C,D = vor der Menarche
E,F,G = nach der Menarche

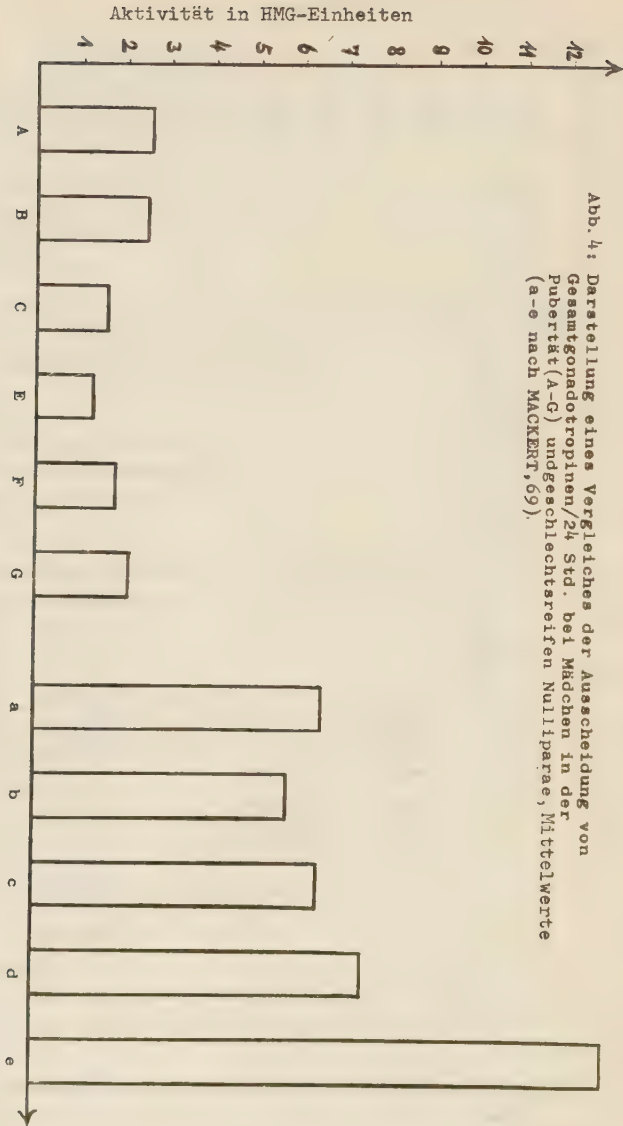


Abb. 4: Darstellung eines Vergleiches der Ausscheidung von Gesamtgonadotropinen/24 Std. bei Mädchen in der Pubertät (A-G) und geschlechtsreifen Nulliparae, Mittelwerte (a-e nach MACKERT, 69).

Person	Tag	pH	Urimenge ml	Kaolin g	Aqua dest. ml	Überstand ml	Aceton ml
A	1.	5,7	600,0	12,0	30,0	40,0	200,0
	2.	5,9	520,0	10,4	26,0	50,0	250,0
	3.	5,6	550,0	11,0	27,5	40,0	200,0
	4.	5,8	325,0	6,5	16,2	24,5	122,5
	5.	6,1	365,0	7,3	17,2	24,0	120,0
	6.	5,9	250,0	5,0	12,5	16,0	80,0
	7.	6,1	725,0	14,5	36,2	46,0	230,0
	8.	6,4	528,5	10,5	26,4	33,5	167,5
	9.	6,3	775,0	15,5	38,7	42,0	210,0
	10.	6,5	655,0	13,6	32,7	40,5	202,5
	11.	5,9	405,0	8,1	20,2	21,0	105,0
	12.	6,5	600,0	12,0	30,0	39,5	197,5

Tabelle 1-6 : Ergebnisse und Daten bei der Durchführung der Kaolin-Aceton-Methode nach Loraine und Brown bei den einzelnen Versuchspersonen(A-G).

Person	Tag	pH	Urinmenge ml	Kaolin g	Aqua dest. ml	Überstand ml	Aceton ml
B	1.	6,3	400,0	8,0	20,0	25,0	125,0
	2.	6,2	990,0	19,8	49,5	95,0	475,0
	3.	6,3	1045,0	20,9	52,2	85,0	425,0
	4.	6,0	1005,0	20,1	50,3	75,0	375,0
	5.	6,3	935,0	18,7	46,7	54,5	272,5
	6.	6,1	1060,0	21,2	53,0	85,0	425,0
	7.	6,5	945,0	18,9	47,2	57,5	187,0
	8.	6,4	870,0	17,4	43,5	51,0	255,0
	9.	6,4	950,0	19,0	47,5	56,5	282,5
	10.	6,3	835,0	16,7	41,7	42,0	210,0
	11.	6,3	1095,0	21,9	54,7	60,5	302,5
	12.	6,5	815,0	16,3	40,7	46,0	230,0

Tabelle 2.

Person	Tag	pH	Urinmenge ml	Kaolin g	Aqua dest. ml	Überstand ml	Aceton ml
C	1.+2.	6,5	935,0	18,7	46,7	61,0	305,0
	3.+4.	6,5	845,0	16,9	42,2	54,0	270,0
	5.+6.	6,6	895,0	17,9	44,7	57,0	285,0
D	1.	6,5	920,0	18,4	45,0	80,5	402,5
	2.	5,9	645,0	12,9	32,2	42,0	210,0
	3.	6,3	805,0	16,1	40,2	69,0	345,0
	4.	6,3	955,0	19,1	47,7	82,5	412,5
	5.	6,5	965,0	19,3	48,2	77,0	365,0
	6.	5,9	657,0	13,1	32,8	76,0	380,0
	7.	6,4	890,0	19,8	44,5	55,0	275,0
	8.	6,3	1005,0	20,1	50,2	60,5	302,5
	9.	6,2	525,0	10,5	26,2	35,0	175,0
	10.	6,5	1065,0	21,3	53,2	63,0	315,0
	11.	6,1	905,0	18,1	45,2	55,0	275,0

Tabelle 3.

Person	Tag	pH	Urinmenge ml	Kaolin g	Aqua dest. ml	Überstand ml	Aceton ml
E	1.	5,9	840,0	16,8	42,0	56,0	280,0
	2.	6,2	655,0	13,1	32,7	44,0	220,0
	3.	6,4	735,0	14,7	36,7	48,0	240,0
	4.+5.	6,3	1040,0	20,8	52,0	66,0	330,0
	6.	7,7	730,0	14,6	36,5	43,0	215,0
	7.	5,6	620,0	12,4	31,0	42,5	212,5
	8.	5,8	880,0	17,6	44,0	55,0	275,0
	9.	6,6	1000,0	20,0	50,0	61,0	305,0
	10.	5,9	890,0	19,8	44,5	57,0	285,0

Tabelle 4.

Person	Tag	pH	Urinmenge ml	Kaolin g	Aqua dest. ml	Überstand ml	Aceton ml
F	1.	6,2	685,0	13,7	34,2	45,0	225,0
	2.	6,3	525,0	10,5	26,2	32,0	160,0
	3.	6,8	635,0	12,7	31,7	40,0	200,0
	4.	6,0	448,0	8,9	24,4	35,5	177,5
	5.	6,6	690,0	13,8	34,5	47,0	235,0
	6.	6,4	540,0	10,8	27,0	40,0	200,0
	7.	6,7	630,0	12,6	31,5	39,5	187,5
	8.	6,8	695,0	13,9	34,7	44,0	220,0
	9.	6,3	600,0	12,0	30,0	39,5	197,5
	10.	6,4	590,0	11,8	29,5	38,0	190,0

Tabelle 5.

Person	Tag	pH	Urinmenge ml	Kaolin g	Aqua dest. ml	Überstand ml	Aceton ml
G	1.	6,4	820,0	16,4	41,0	69,0	345,0
	2.	6,5	710,0	14,2	35,5	58,5	292,5
	3.	6,3	1000,0	20,0	50,0	76,0	380,0
	4.	6,3	715,0	14,3	35,7	69,0	345,0
	5.	5,9	932,0	18,6	46,6	74,0	370,0
	6.	5,6	765,0	15,3	38,2	53,0	265,0
Standard (Frauen in der Meno- pause)	1.	5,5	725,0	14,5	36,2	62,0	310,0
	2.	5,4	1422,0	28,4	71,1	106,0	530,0
	3.	8,3	1213,0	24,2	60,2	90,0	450,0
	4.	8,7	465,0	9,3	23,2	34,5	172,5
	5.	5,2	648,0	13,6	34,2	41,5	207,5
	6.	5,0	828,0	16,5	41,4	52,5	262,5
	7.	5,3	405,0	8,1	20,2	27,5	132,5
	8.	5,7	880,0	17,6	44,0	56,0	280,0
	9.	6,4	512,0	10,2	25,6	37,5	187,5
	10.	6,3	715,0	14,3	35,7	49,5	247,5
	11.+12.	6,3	710,0	14,2	35,5	47,0	235,0
	13.+14.	5,1	559,0	11,2	27,9	41,0	205,0

Tabelle 6.

Person	Tage	Roh- extrakt- menge g	Aqua dest. ml	Gesamt- über- stand ml	Ca_3PO_4 ml	Über- stand ml	Aceton ml	Rein- extrakt mg	Rein- extrakt pro Tag mg
A	1.- 6.	1,777	35,5	39,5	6,3	45,5	227,5	777,0	129,0
	7.-12.	1,549	30,9	35,0	4,1	40,0	200,0	523,0	87,1
B	1.- 6.	0,840	16,8	22,5	3,6	31,5	157,5	458,0	76,0
	7.-12.	1,002	20,0	25,0	4,0	28,5	142,5	399,0	66,5
C	1.- 6.	1,428	28,5	32,5	5,2	36,5	182,5	638,0	106,3
D	1.- 6.	0,679	13,5	24,1	3,8	24,5	122,5	473,0	79,0
	7.-12.	1,995	39,9	44,0	7,0	50,5	252,5	735,0	122,5
E	1.- 5.	2,174	43,4	37,5	6,0	43,0	215,0	469,0	93,4
	6.-10.	1,768	35,3	35,5	5,7	40,5	202,0	606,0	121,2
F	1.- 5.	1,319	26,4	30,0	4,8	34,0	170,0	498,0	99,6
	6.-10.	2,126	42,5	38,5	6,2	43,5	217,5	575,0	125,0
G	1.- 6.	2,745	54,9	56,0	8,9	64,5	322,5	777,0	129,0

Tabelle 7 : Ergebnisse und Daten der Tricalciumphosphat-Adsorption bei den einzelnen Versuchspersonen.

Person	Zeit- raum Tage	Urinmenge(ml) gesamt pro Tag	Rohextraktmenge (mg) gesamt pro 10ml pro Tag	Reinextrakt(mg) gesamt pro Tag
1.	Frauen mit Zyklus	154,0 l	44300,0	2,87
	Frauen in der M.P.	6,6 l	1500,0	2,27
2.	Frauen mit Zyklus	427,0 l	79600,0	1,86
3.	Frauen mit Zyklus	10,6 l	4500,0	4,26
	Frauen in der M.P.	80,2 l	27300,0	3,40
4.	Frauen mit Zyklus	102,0 l	56900,0	5,58
	Frauen in der M.P.	23,0 l	6700,0	2,91
5.	A	12	6298,0	524,8
	B	12	10945,0	912,0
	C	6	2675,0	445,8
	D	12	9817,0	818,8
	E	10	7390,0	739,0
	F	10	6038,0	603,8
	G	6	4942,0	823,6
	Standard (Frauen in der MP)	14	9118,0	651,0
			1862,0	2,95
			3326,0	3,03
			1428,0	5,27
			2674,0	2,72
			3942,0	5,33
			3445,0	5,71
			2745,0	5,55
			4444,0	4,87
			155,1	1300,0
			277,1	857,0
			234,6	638,0
			222,8	1208,0
			394,0	100,6
			344,5	1075,0
			457,0	1073,0
			317,4	777,0
				1750,0
				129,5
				125,0

Tabelle 8 : Ergebnisse der Roh- und Reinextraktmengen sowie ein Vergleich der
mit der Kaolin-Aceton-Methode nach Loraine und Brown von ver-
schiedenen Untersuchern gewonnenen Rohextraktmengen

1. J.A.Loraine und J.B.Brown(66)
2. R.Buchholz(24)
3. W.Gördes(44)
4. B.Mackert(69)
5. eigene Untersuchungen

Person	Gewicht (g) der			gespritzte Reindextraktosis (mg)			Standard	Gewicht (g) der		gespritzte Standarddosis (mg)	
	8	16	32	64	128	256		4	8	16	32
A	Mäuse	9,2	10,2	11,5	10,6			Mäuse	10,6	8,9	
		10,3	10,6	10,8	9,7				9,8	9,7	
		9,4	9,5	10,9	12,0				10,2	10,1	
		10,2	10,7	10,0	11,1				11,3	10,1	
		9,5	9,2	10,9	10,5				-	-	
	Uteri	9,0	9,0	13,5	23,5			Uteri	21,0	29,0	
	(abso- lutes Gewicht)	8,0	10,0	10,5	17,5			(abso- lutes Gewicht)	13,0	19,5	
		7,5	7,0	11,5	21,5				16,0	43,0	
		9,0	9,0	10,5	26,0				13,0	27,5	
		9,0	6,5	11,5	32,5				-	-	
	Uteri	9,7	8,8	11,0	22,1			Uteri	19,8	32,5	
	(rela- tives Gewicht)	7,8	9,4	9,6	18,0			(rela- tives Gewicht)	13,3	20,1	
		7,9	7,3	10,6	17,9				15,7	42,5	
		8,8	8,4	9,6	23,4				11,5	27,2	
		9,4	7,1	11,5	30,9				-	-	

Tabelle 9-15 : Ergebnisse des Mäuse-Uterus-Testes bei den einzelnen Versuchspersonen(A-G).

Person	Gewicht (g) der	gespritzte Reinextraktosis (mg)				Gewicht (g) der	gespritzte Standarddosis(mg)			
		16	24	32	48		2	4	8	16
B	Mäuse	8,7	8,0	10,4	10,1	10,0	Standard Mäuse			
		10,3	8,5	10,0	11,2	10,5				
		8,7	10,5	10,0	10,3	10,2				
		10,8	8,4	9,3	9,2	10,0				
	Uteri (absolut- Gewicht)	9,3	7,0	7,0	10,0	16,0	Uteri			
		7,0	9,5	14,5	11,5	16,5				
		15,5	10,0	9,0	11,0	14,5				
		6,8	9,0	9,0	9,5	14,0				
	Uteri (rela- tives Gewicht)	10,6	8,7	16,3	9,3	16,0	Uteri			
		6,8	11,1	14,5	10,3	15,7				
		17,8	9,5	9,0	10,7	13,8				
		6,3	10,7	9,6	10,3	14,0				

Tabelle 10

Person	Gewicht (g) der	gespritzte Reinextraktosis(mg) 56 96	Gewicht (g) der	Standard	Standarddosis(mg) 4 8 16 48
C	Mäuse	8,6 9,3 8,8 8,5 9,1 8,5 8,0 9,8	Mäuse		11,1 12,6 11,6 9,7 10,9 10,2 11,6 8,3 9,2 12,0 11,0 9,3 9,8 10,5 10,9 9,7
	Uteri (abso- lutes Gewicht)	8,5 17,2 8,5 13,5 9,5 13,6 10,0 19,1	Uteri		18,0 46,5 81,0 42,0 16,0 40,5 51,5 30,5 18,0 48,5 58,5 32,0 17,5 45,5 47,0 35,5
	Uteri (rela- tives Gewicht)	9,6 18,5 9,6 16,5 10,4 16,0 12,5 19,5	Uteri		16,2 36,9 69,8 43,3 14,7 39,8 44,4 36,7 19,5 40,4 53,2 34,4 17,8 43,1 43,1 36,6

Tabelle 11

Person	Gewicht (g) der	gespritzte Reinextraktosis(mg) 64 96 136	Gewicht (g) der	gespritzte Standarddosis(mg) 4 8 32 64
D	Mäuse	9,7 9,4 8,7 9,2 7,1 9,8 9,8 8,5 8,3 8,5 9,2 9,1	Standard Mäuse	11,1 12,6 9,0 9,7 10,9 10,2 12,2 10,5 9,2 12,0 10,5 10,3 9,8 10,5 9,1 8,9
	Uteri (abso- lutes Gewicht)	13,0 9,0 10,0 11,0 7,5 8,0 12,5 14,5 10,5 13,0 - -	Uteri	18,0 46,5 62,0 52,5 16,0 40,5 50,0 50,0 18,0 48,5 75,0 61,0 17,5 45,5 49,5 59,0
	Uteri (rela- tives Gewicht)	13,4 9,6 11,5 11,9 10,5 8,2 12,7 15,9 12,6 15,2 - -	Uteri	16,2 36,9 68,8 54,1 14,7 39,8 40,9 47,6 19,5 40,4 71,4 59,2 17,8 43,1 54,4 66,2

Tabelle 12

Person	Gewicht (g) der	gespritzte Reinextraktosis(mg)			Standard	Gewicht (g) der	gespritzte Standardmenge(mg)			
		64	96	105			4	8	32	64
E	Mäuse	8,7	10,5	10,4	Mäuse		11,1	12,6	9,0	9,7
		10,2	8,5	11,8			10,9	10,2	12,2	10,5
		8,3	9,5	10,0			9,2	12,0	10,5	10,3
		11,0	7,1	10,0			9,8	10,5	9,1	8,9
	Uteri (abso- lutes Gewicht)	10,5	13,0	25,0	Uteri		18,0	46,5	62,0	52,5
		14,0	18,5	71,0			16,0	40,5	50,0	50,0
		12,0	41,5	43,0			18,0	48,5	75,0	61,0
		10,0	12,0	27,5			17,5	45,5	49,0	59,0
	Uteri (rela- tives Gewicht)	12,1	12,4	24,0	Uteri		16,2	36,9	68,8	54,1
		13,7	21,7	60,1			14,7	39,8	40,9	47,6
		14,4	43,6	43,0			19,5	40,4	71,4	59,2
		9,1	16,9	27,2			17,8	43,1	54,4	66,2

Tabelle 13

Person	Gewicht (g) der	gespritzte Reinextraktosis(mg) 64 80 96	Standard	Gewicht (g) der	gespritzte Standarddosis(mg) 4 8 16 48
F	Mäuse	9,2 9,5 11,0 8,5 10,9 8,7 9,2 9,8 9,7 9,8 8,3 10,3		Mäuse	11,1 12,6 11,6 9,7 10,9 10,2 11,6 8,3 9,2 12,0 11,0 9,3 9,8 10,5 10,9 9,7
	Uteri (abso- lutes Gewicht)	9,5 9,5 35,5 11,0 10,0 34,0 10,5 12,0 37,0 13,4 11,0 24,0		Uteri	18,0 46,5 81,0 42,0 16,0 40,5 51,5 30,5 18,0 48,5 58,5 32,0 17,5 45,5 47,0 35,5
	Uteri (rela- tives Gewicht)	10,3 10,0 32,3 12,9 9,1 39,0 11,4 12,2 38,1 13,7 13,3 23,3		Uteri	16,2 36,9 69,8 43,3 14,7 39,8 44,4 36,7 19,5 40,4 53,2 34,4 17,8 43,1 43,1 36,6

Tabelle 14

Person	Gewicht (g) der	gespritzte Reinextraktosis(mg) 16 32 68	Gewicht (g) der	gespritzte Standarddosis(mg) 2 4
G	Mäuse	9,5 12,5 9,7 11,4 11,8 8,9 11,4 10,1 11,2 10,2 10,9 8,0	Standard Mäuse	10,4 9,2 11,6 11,3 12,2 9,9 10,3 9,2
	Uteri (abso- lutes Gewicht)	11,0 11,0 14,5 10,5 11,0 14,0 10,5 10,0 16,5 6,5 10,0 12,5	Uteri	8,0 7,0 15,0 18,0 10,0 19,0 13,0 16,0
	Uteri (rela- tives Gewicht)	11,5 8,8 14,9 9,2 9,3 15,7 9,2 9,9 14,7 6,4 9,2 15,6	Uteri	7,7 7,5 12,9 15,9 8,2 19,1 12,6 17,3

Tabelle 15

Proband	HMG-E.		HMG-E.		t ₁	t ₂	L	HMG-E.		R ₀ %
	Aktivität pro mg	Aktivität pro Tag	g					R	R _u %	
A	0,0241	2,601	0,147	-1,26	-3,18	0,11	9,06	1,77	65,4	133,8
B	0,0212	1,515	0,699	-0,74	+0,60	0,23	4,18	0,31	40,8	134,7
C	0,0101	1,099	0,011	-5,73	-22,43	0,03	33,29	0,22	89,1	110,5
E	0,0126	1,330	0,392	-0,53	-1,24	0,13	7,64	1,27	44,4	139,9
F	0,0173	1,863	0,125	+0,92	-0,15	0,07	14,10	0,64	82,5	120,9
G	0,0161	2,094	0,209	+0,51	-0,68	0,13	7,30	1,63	65,3	143,8
Mittelwert	0,0169	1,750	0,264	-1,14	-4,51	0,11	12,59	0,98	61,3	130,6
Maximalwert	0,0241	2,601	0,699	+0,92	+0,60	0,23	33,29	1,77	89,1	139,9
Minimalwert	0,0101	1,099	0,133	-5,73	-22,43	0,03	4,18	0,22	40,8	110,5

Tabelle 16 : Der Mittelwert, Maximalwert und Minimalwert der Gesamtgonadotropinausscheidung bei 6 Mädchen in der Pubertät (A,B,C = vor der Menarche, E,F,G = nach der Menarche), sowie Angaben über Präzisionsmaße (λ ,L) und Vertrauensgrenzen(R).

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

1. A l b e r t, A., J. D e r n e r,
J. L e i f e r m a n, V. S t e l l m a c h e r,
J. B a r n u m:
Studies on the biologic characterization of human
gonadotrophins.
J. clin. Endocr. 21, 839 (1961)
2. A l b e r t, A., J. D e r n e r,
J. L e i f e r m a n, V. S t e l l m a c h e r,
J. B a r n u m:
Purification of pituitary gonadotrophin from urine
of postmenopausal woman.
J. clin. Endocr. 21, 1260 (1961)
3. A l b e r t, A.:
Human urinary gonadotrophin.
Recent Progr. Hormone Res. 12, 227 (1956)
4. A l e x a n d r i d i s, D., M. A p o s t o l a k i s
and K.D. V o i g t:
Comparative studies on methods of assay for a routine
clinical gonadotrophin determination in human urine.
Acta endocrin. (Kbh.) 29, 537 (1958)
5. A p o s t o l a k i s, M.:
Experimentelle Grundlagen und klinische Bedeutung der
Forschung auf dem Gebiet der menschlichen Gonadotropine.
Klin. Wschr. 39, 453-460 (1961)
6. A p o s t o l a k i s, M. und K.D. V o i g t:
Gonadotropine.
Verlag Thieme, Stuttgart, 1965

7. A r o n , M . , C . A r o n , J . M a r e s c a u x ,
A . P e t r o v i c :
Problème de la dualité de la gonadostimuline.
Bull. Soc. roy. Belge. Gynéc. et Obstétr. N.S. 28, 51
(1958)
8. A s c h h e i m , S . u n d J . Z o n d e k :
Hypophysenvorderlappenhormon und Ovarialhormon im Harn
von Schwangeren.
Klin. Wschr. 22, 1332 (1927)
9. B a l l e - H e l a e r s :
Dosage polarographique de la gonadotrophine (4.Symposium).
Bull. Soc. roy. Belge Gynéc. et Obstétr.
10. B e r s i n , T . :
Biochemie der Hormone.
Akad. Verlagsgesellschaft Geest & Portig K.G.
Leipzig 1960
11. B i c k e n b a c h , W . , G . K . D ö r i n g u n d
M . U h l e n h o f f :
Über den Einfluß der Rückenmarkdurchtrennung auf den
Scheidenzyklus der weißen Ratte.
(Beitrag zur Frage einer spinalen Zyklussteuerung)
Arch. Gynäk. 181, 524 (1952)
12. B i c k e n b a c h , W . , G . K . D ö r i n g u n d
C . H o s s f e l d :
Experimentelle Frühovulation durch Cervixreizung
beim Menschen.
Arch. Gynäk. 192, 412 (1960)
13. B l i s s , C . J . a n d M c C a t t e l l :
Biological assay.
Annual Rev. Physiol. 5, 479 (1943)

14. B o u m a n , J. :
Het bepalen van gonadotrope hormonen in urine.
Algemeen statistisch gedeelte.
Bull. Soc. roy. Belge Gynéc. et Obstétr.
N.S. 27, 626 (1927)
15. B o r n , J.H. , J.J. F i n n e y und L.G. G o o d w i n :
Biological Standardisation.
London, Oxford Univ. Press 1950
16. B o r t h , R. , E. D i c z f a l u s y und
H.D. H e i n r i c h s :
Grundlagen der statistischen Auswertung biologischer
Bestimmungen.
Arch. Gynäk. 188, 497 (1957)
17. B o u r r i l l o n , R. , R. G o t , R. M a r c y :
Etude electrophoretique et biologique de la gonado-
trophine chorale humaine a differents stades de
purification.
Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) 38, 1165 (1956)
18. B o u r r i l l o n , R. , R. G o t , R. M a r c y :
Preparation of highly purified sample of the urinary
gonadotrophin.
Nature (London) 184, 983 (1959)
19. B o u r r i l l o n , R. , R. G o t , R. M a r c y :
Isolement et quelques caractéristiques d'une gonado-
trophine urinaire de ménopause homogene a l'électro-
phorese.
Acta endocrin. (Kbh.) 35, 225 (1960)

20. B r o w n , P.S.:
The assay of gonadotrophin from urine of nonpregnant human subjects.
J. of Endocrin. 13, 59 (1955)
21. B r o w n , J.G., A. K l o p p e r and
J.A. L o r a i n e :
The urinary excretion of oestrogenes, pregnandiol and gonadotrophins during the menstrual cycle.
J. of Endocrin. 17, 401 (1958)
22. B r o w n , J.B. and J.A. L o r a i n e :
The extraction of gonadotrophins from urine for bioassay.
J. of Endocrin. 13, II, Proceedings 1955
23. B r o w n , P.S.:
Human urinary gonadotrophins.
I. In relation to puberty.
J.Endocrin. 17, 4, 329 (1958)
24. B u c h h o l z , R.:
Quantitative Bestimmungen der gonadotropen Hypophysenhormone im Zyklus.
Geburtsh. und Frauenheilk. 17, 707 (1957)
25. B u c h h o l z , R.:
Neue Erkenntnisse auf dem Gebiet der Sexualhormonforschung und ihre Bedeutung für die Praxis.
Geburtsh. und Frauenheilk. 17, 581 (1957)
26. B u c h h o l z , R.:
Untersuchungen über die Ausscheidungsverhältnisse der gonadotropen hypophysenhormone FSH und ICSH im menstruellen Zyklus.
Z. exper. Med. 128, 219 (1957)

27. B u t t , W.R. und A.C. C r o o k e :
Chromatography of urinary gonadotrophins.
Ciba Found. Colloq. Endocrin. 5, 44 (1953)
28. B u t t , W.R., A.C. C r o o k e and
F.J. C u n n i n g h a m :
The use of ion-exchange materials in the fractionation
of gonadotrophins from urine.
Acta endocrin. (Kbh.) 32, 509 (1959)
29. B u t t , W.R., A.C. C r o o k e and
F.J. C u n n i n g h a m :
Studies on human urinary and pituitary gonadotrophins.
Biochem. J. 81, 596 (1961)
30. C o l l i p , J.B.:
Glandular physiology and therapie.
Chap. III. A.M.A. Chicago (1942)
31. D e s c l i n , L.:
Experiences physiologique concernant la liberation du
FSH et du LH hypophysaires.
Bull. Soc. roy. Belge Gynéc. et Obstétr.
N.S. 28, 83 (1958)
32. D i c z f a l u s y , E. und H.D. H e i n r i c h s :
Gonadotropine und ihre Bestimmung.
Arch. Gynäk. 187, 556 (1956)
33. D ö r i n g , G.K.:
In: Landois - Rosemann, Lehrbuch der Physiologie des
Menschen, 1. Band.
Verlag Urban & Schwarzenberg, München-Berlin, 1960

34. D ö r n e r , G. und H. H o h l w e g :
Hemmung der Ausbildung von Kastrationshypophysen durch
Morphin.
Arch. Gynäk. 191, 463 (1959)
35. D r e s c h e r , J. :
Experimentelle Untersuchungen zum Gonadotrophinstoff-
wechsel.
Geburtsh. und Frauenh. 18, 592 (1958)
36. E m m e n s , C. :
Principles of Biological Assay.
London Chapman and Hill Ltd. 1948
37. E v a n s , H.M. and J. L o n g :
Characteristic effects upon growth, oestrus and ovulation
induced by intra peritoneal administration of fresh an-
terior hypophysial substance.
Proc. nat. Anat. 8, 38 (1922)
38. E v a n s , H.M. and M.E. S i m p s o n :
Physiology of the gonadotrophins.
In: G.Pincus and K.V.Thiman, The Hormones.
Vol. 2, p. 351, New York, Academic Press 1950
39. F a i e r m a n , S.E. :
Excretion of hormones of the sexual cycle in the
amenorrhea of women.
Akush.i.Ginek. 1, 36 (1945)
40. F i n n e y , D.J. :
Statistical methods in biological assay.
London, Charles Griffin, 1952

41. G a d d u m, J.H.:
Reports on biological Standards. III. Methods of biological assays depending on quantal response.
Special Reportes Seies, Medical Research Counal.
London, No 13, 1933
42. G a d d u m, J.H.:
Bioassays and mathematics.
Pharm. Rev. 5, 87 (1953)
43. G a d d u m, J.H.:
Simplified mathematics for bioassays.
J. Pharm. and Pharmacol. 6, 375 (1953)
44. G ö r d e s, W.:
Über die Methodik der Gonadotropinbestimmung und über die Gesamtgonadotropinausscheidung im Postmenopausenharn vor und nach Verabreichung von 9-alpha-brom-11-ketoprogesteron.
Dissertation, I. Univ.Frauenklinik, München, 1962
45. G r e u l i c h, W.W., R. D o r f m a n,
H.R. C a t c h p o l e, C.J. C u l o t t a:
Somatic and endocrine studies of puberal and adolescent boys.
In: Monography of the society for research in child development, Bd. VII, ser. 33, No 3, Washington 1942
46. G r o l l m a n, A.:
Clinical endocrinology and its physiologic basis.
London 1964

47. H a l a c z , B. , L. P u p p , S. U h l a r i k :
Hypophysiotrophic area in the hypothalamus.
J.Endocrin. 25, 147 (1962)
48. H a r r i s , G.W.:
Neutral control of the pituitary gland.
Brit. med. J. 8, 559 (I), 627 (II); 1951
49. H a r r i s , G.W. and D. J a c o b s o n :
Functional grafts of the anterior pituitary gland.
Proc. roy. Soc. 139, Plates 20 and 21 (1952)
50. H a r t l e y , M.W., N.H. M c S h a n , H. R i s :
Isolation of cytoplasmic pituitary granules with gonado-
trophic activity.
J. biophys. biochem. Cytol. 7, 209 (1960)
51. H e r l a n t , M.:
La dualité des cellules gonadotrope au niveau du lob
antérieur de l'hypophyse.
Bull. Soc. roy. Belge Gynéc. et Obstétr.
N.S. 28, 69 (1958)
52. J o h n s o n , S.G.:
A clinical routine-method for the qualitativ and quan-
titativ determination of gonadotrophins in 24-hour urine
samples: normal values for men and women at all age
groupes from pre-puberty to senescence.
Acta endocrin. 31, 209 - 227 (1959)
53. J o h n s o n , S.G.:
A clinical routine method for quantitativ determination
of hypophyseal gonadotrophins in the urine. Normal va-
lues for males and females of all age-groupes.
Ugeskr. Laeger 121, 317 (1959)

54. J o h n s o n, S.G.:
Studies of urinary gonadotrophins. I. Large scale preparation of highly activ gonadotrophins from the urine of postmenopausal woman.
Acta endocrin. (Kbh.) 20, 101 (1955)
55. K n a p p e , G., G. D ö r n e r, F. S t a h l:
Nachweis hypophysärer Gonadotropine im Harn von Kindern.
Klin. Wochenschrift, 39, 971 (1961)
56. L a b h a r t, A.:
Klinik der inneren Sekretion.
Springer Verlag, Berlin-Göttingen, 10. Aufl., 1957
57. L a n d a u, B., H.S. S c h w a r t z und
L.J. S o f f e r:
Presence of a gonadotrophin-inhibiting factor in urine of young children.
Metabolism 9, 85 (1960)
58. L a x, H.:
Stoeckels Lehrbuch der Gynäkologie.
Hirzel Verlag, Leipzig, 1960
59. L e h n a r t z, R.:
Chemische Physiologie.
Springer Verlag, Berlin-Göttingen, 10. Aufl., 1952
60. L e u t h a r d t, F.:
Lehrbuch der Physiologischen Chemie.
Walter de Gruyter & Co., 14. Aufl., 1959

61. L e v i n , L. and H.H. T y n d a l e :
The quantitativ assay of follicle stimulating substances.
Endocrinology 21, 619 (1937)
62. L i n d e r , A.:
Planen und Auswerten von Versuchen.
Basel, Birkhäuser Verlag, 1951
63. L i n d e r , A.:
Statistische Methoden.
Birkhäuser Verlag, Basel, 2. Aufl., 1951
64. L o r a i n e , J.A. and J.B. B r o w n :
Some observations on the estimation of gonadotrophins
in human urine.
Acta endocrin.(Kbh.) 17, 250 (1954)
65. L o r a i n e , J.A. and J.B. B r o w n :
The assay of urinary gonadotrophins from men and from
normally menstruating women in terms of Human Meno-
pausal Gonadotrophins (HMG).
J. of Endocrin. Proceedings of the Society for
Endocrinology, 13, I, 1955
66. L o r a i n e , J.A. and J.B. B r o w n :
Further observations on the estimation of urinary gona-
dotrophins in non pregnant human subjects.
J. Clin. Endocrin. a. Metabolism 16, 1180 (1956)
67. L o r a i n e , J.A.:
Recent work on the quantitativ determination of pi-
tuitary gonadotrophins in urine.
Acta endocrin. (Kbh.) 24, Suppl. 31, 75 (1957)

68. L o r a i n e , J.A. and M.A. M a c k a y :
A comparison of various extraction methods for urinary gonadotrophins with special reference to yields.
J. Endocrin. 22, 277 (1961)
69. M a c k e r t , B.:
Die quantitative Erfassung der Gesamtgonadotrophine der Hypophyse im Harn bei Nulliparae mit biphasischem Menstruationszyklus.
Dissertation, I. Univ. Frauenklinik, München, 1963
70. M a i e r , E.:
Mschr. Kriminol. 37, 34 (1954)
Zitiert über Schwenk und Ohndorf (Literaturang. 80)
71. M a r t i u s , H.:
Lehrbuch der Gynäkologie.
Thieme Verlag, Stuttgart, 1962
72. N a t h a n s o n , J.T., L.E. T o w n e and J.C. A u b :
Normal excretion of sex hormones in childhood.
Endocrinology 28, 851 (1941)
73. N e u r a t h , R.:
Physiologie und Pathologie der Pubertät.
In: v. Pfaundler, M. und R. Schlossmann,
Handbuch der Kinderheilkunde.
74. N i k i t o v i t c h - W i n e r , M.B.:
Induction of ovulation in rats by direct intrapituitary infusion of median eminence extracts.
Endocrinology 70, 350 (1962)

75. P u r v e s, H.D. and W.E. G r i e s b a c h:
The site of follicle stimulating and luteinising hormone
production in the rat pituitary.
Endocrinology 55, 785 (1954)
76. R a k o f f, A.E.:
Psychogenic factors in anovulatory women. I. Hormonal
patterns in woman with ovarian dysfunctions of psycho-
genic origin.
Fertil and Steril 13, 1 (1962)
77. R i g a s, D.E., A. P a u l s e n and C.G. H e l l e r:
Purification of gonadotrophins derived from urine and
pituitary glands of human beings: Observations on their
electrophoretic behaviour and biological activity.
Endocrinology 62, 738 (1958)
78. R o m e i s, B.:
Handbuch der mikroskop. Anatomie des Menschen.
Band 6/3, Berlin 1940
79. S c h n e i d e r, W.G. und H. F r a h m:
Über Gonadotropinextrakte des klinischen Laboratoriums
(hypophysäre und choreale).
Klin. Wschr. 39, 289 (1961)
80. S c h w e n k, A. und H. O h n d o r f:
Untersuchungen zur Endokrinologie der Pubertät. I.Mitt.
Die Ausscheidung der hypophysären Gonadotropine in der
männlichen und weiblichen Pubertät.
Zeitschrift für Kinderheilkunde 79, 6, 645 (1957)
81. S c h w e n k, A.:
Postnatale Sexualentwicklung.
Deut. med. Wschr. 86. Jg., 408, 1961

82. S e g a l o f f, A. und S. L. S t e e l m a n :
The human gonadotrophins.
Recent Progr. Hormone Research 15, 127 (1959)
83. S m i t h, Ph. E. and E. P. E n g l e :
Experimental evidence regarding the role of the anterior
pituitary in the development and regulation of the geni-
tal system.
Amer. J. Anat. 40, 159 (1927)
84. S t u a r t, H. C. :
New England J. Med. 234, 639 (1946)
Zitiert über Schwenk und Ohndorf (Literaturang. 80)
85. S u e k i r o, M., M. K o d o k o v o and T. S a t o :
Studies on the bioassay of pregnant mare serum gonado-
trophic hormones using immature female mice.
Endocrinology jap. 2, 175 (1955)
86. S w i n g l e, S. M. and A. T i s e l i u s :
Tricalciumphosphate as an absorbent in the chromato-
graphy of proteins.
Biochemic. J. 48, 171 (1951)
87. T a u b e r t, M. :
Über die hypophysären Gonadotropine und die Bedeutung
ihrer Bestimmung für die Diagnostik endokriner Störungen.
Die Medizinische 1956, 649.
88. T r a m e r, M. :
Lehrbuch der allgemeinen Kinderpsychiatrie.
Benno Schwabe, Basel, 1949

89. W a l t e r, K.:

In: Die partielle Hypophysenvorderlappeninsuffizienz.
Implantation von endokrinen Drüsen und ihre Wirkungen
bei Tier und Mensch.

4. Symposion der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie,
Berlin, 1.-3. März 1956.

90. v a n d e r W e r f t e n B o s c h, J.J.:

Neural and hormonal factors in the regulation of gonadotrophin secretion.

Acta endocrin. (Kbh.) Suppl. 67, 47 (1962)

91. W e r t h, G.:

Die gonadotropen Hormone.

I. Mitt., Arzneimittelforschung 5, 409 (1955)

92. W e s t m a n, A. and D. J a c o b s o n:

Endokrinologische Untersuchungen an Ratten mit durchtrenntem Hypophysenstiel.

Acta obstetr. et gynaec. scand. 18, 99 (1938)

93. W h i t a c r e, F.E. and B. B a r e r a:

War amenorrhea; clinical and laboratory study.

J. Amer. med. Ass. 124, 399 (1944)

Mein Dank gebührt Herrn Professor Dr. W.Bickenbach dafür, daß ich die Experimente in der I. Universitäts-Frauenklinik durchführen durfte und für sein Interesse, das er den Gonadotropinuntersuchungen entgegenbrachte.

Ganz besonders bin ich Herrn Professor Dr. R.Kaiser für die Überlassung des Dissertationsthemas sowie für seine Hilfe bei der Durchführung der Experimente als auch bei der schriftlichen Abfassung der Arbeit dankbar.

An dieser Stelle sei auch Fräulein U.Rogowski gedankt, die mir bei labortechnischen Fragen jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand.

Lebenslauf

Am 26. März 1937 wurde ich in Königsberg/Pr. als Sohn des Studienrats Siegfried Paczynski und seiner Ehefrau Annalies, geb. Schmidt, geboren. Meine Schulausbildung begann ich in Nauwalde bei Risa bzw. Leipzig und setzte sie nach der Flucht in Kocherstetten/Württbg. fort. In Künzelsau/Württbg. wechselte ich auf die Oberschule über und schloß die Oberschul Ausbildung im Jahre 1957 an der Oberschule am Barkhof in Bremen mit der Reifeprüfung ab.

An der Freien Universität Berlin nahm ich im Sommersemester 1957 das naturwissenschaftliche und ein Semester später das medizinische Studium auf. Es folgten weitere Semester in München und Wien. An der Maximilians-Universität München bestand ich im Jahre 1959 das Physikum und im Jahre 1963 das Staatsexamen.

Als Medizinalassistent arbeitete ich drei Monate in der Dermatologischen Univ.-Klinik München, vier Monate in der Univ.-Nervenklinik München, acht Monate auf der chirurg.-gynäkologischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Osterhofen/Ndb. und neun Monate auf der internen Abteilung des Städt. Krankenhauses Altötting. Zur Zeit bin ich im Krankenhaus des Dritten Ordens, München-Nymphenburg, als Assistent auf der gynäkologischen Abteilung tätig.

